

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA ANIMAL



Distribuição e recrutamento da ostra-portuguesa, *Crassostrea angulata* (Lamarck, 1819), no estuário do Sado

Teresa Paula Matias Portela

Mestrado em Ecologia Marinha

Dissertação orientada por:
Prof. Doutor José Lino Costa
Doutora Maria Manuel Pimenta Angélico

2016

Agradecimentos

Quero agradecer aos meus orientadores, à Manel e ao Lino, por tudo o que me ensinaram e pela paciência que tiveram comigo.

À Filipa e à Ana por terem sido mais que colegas. À Filipa pelo trabalhão e pela ajuda com as larvas. À Ana pelas culturas puras das espécies de ostra.

Ao Dr. Ruano pela sua enorme sabedoria e pela sua disponibilidade em esclarecer dúvidas que foram surgindo.

Ao Lobo-do-mar Carlos Silva (ICNF) que nos ajudou e guiou no Sado e que nos contou as suas histórias de golfinhos e sereias.

À Dra. Cristina Falcão (ICNF) pela ajuda e aconselhamento durante a execução deste trabalho.

À Dra. Isabel Teixeira (DGRM) pela disponibilidade em facultar dados importantes ao trabalho.

Ao Dr. Paulo Oliveira pela ajuda com os dados ambientais.

À Sara Costa pela ajuda com o mapa das abundâncias de ostra ao longo do estuário.

Ao pessoal do IPMA que de alguma maneira ajudou neste trabalho, nomeadamente à Lurdes, ao Pedro, à Elis, às meninas Graça e Leonor, ao Sr. Jorge e à Luísa.

À Paula e ao João Ramajal pela ajuda com as amostras da ganchorra. Ao pessoal do MARE/FCUL pelas diferentes contribuições, nomeadamente ao Nuno Castro, à Érica, à Fátima, à Desirée, à Carolina Sá, à Carolina Beltrán e à Luísa.

À Prof. Ana Amorim pela ajuda com o fitoplâncton.

À Irina e ao Vasco pela companhia, pelas piadas e pelos petiscos na «casa do estudante»! Ao Afonso e à Rita por terem descoberto a cantina boa e por fazerem pausas gigantes.

Ao meu querido Juca pelas revisões científicas e literárias e por todos os momentos únicos *fresh and black!*

Por fim, aos meus pais e ao meu irmão, sem eles nada disto era possível. Em especial à minha mãe por me apoiar incondicionalmente e por estar sempre disponível para mim.

Resumo

A ostra-portuguesa, *Crassostrea angulata* (Lamarck, 1819), tem uma grande importância gastronómica, económica e ecológica a nível mundial. No estuário do Sado foi particularmente relevante na produção aquícola até à década de 1970, quando mortalidades em massa quase levaram à sua extinção no local. Atualmente, tal situação parece ter-se alterado, mas é necessário desenvolver trabalhos científicos que o demonstrem.

O objetivo deste estudo foi atualizar o mapeamento da distribuição da espécie neste sistema salobro e estudar a sua abundância, recrutamento larvar e assentamento.

A distribuição espacial foi analisada no subtidal e no intertidal ao longo da generalidade do estuário. Na zona subtidal foram observadas diversas espécies de bivalves e a comunidade foi significativamente diferente consoante a área do estuário. *C. angulata* foi mais abundante no Canal de Alcácer, tanto na zona subtidal, como na zona intertidal, e os teores de matéria orgânica e o tamanho médio do grão dos sedimentos foram as variáveis ambientais que melhor explicaram a distribuição de *C. angulata* na região subtidal. Adicionalmente, os bancos de ostra-portuguesa do Canal de Alcácer, que resistiram ao declínio da espécie no estuário do Sado, são os que se encontram em melhores condições. Foram ainda identificados novos afloramentos mais a montante do que era conhecido.

As maiores abundâncias de larvas de *C. angulata* estiveram presentes no plâncton na primavera quando a temperatura da água atingiu os 18 - 20 °C e a produção fitoplanctónica aumentou. O assentamento decorreu após isso, desde finais de maio até finais de outubro. No entanto, não foi regular ao longo do período em estudo, nem uniforme nos locais testados, sendo claramente relevante o sucesso do assentamento em áreas onde não existia substrato natural disponível à fixação.

Os resultados deste estudo indicam que será possível ajudar a recuperação da população de ostra-portuguesa do estuário do Sado aplicando algumas medidas de gestão que facilitem a revitalização dos bancos naturais.

Palavras-chave: comunidade de bivalves, bancos ostreícolas, larvas de ostra, assentamento, restauração das populações naturais.

Abstract

The Portuguese oyster, *Crassostrea angulata* (Lamarck, 1819), has a very high gastronomic, economic and ecological importance worldwide. In the Sado estuary it was particularly relevant in aquaculture production until the 1970s, when mass mortalities almost led to its extinction on this spot. Nowadays, such situation seems to have changed, but it is necessary to develop more scientific works that demonstrate it.

The aim of this study was to obtain updated mapping of the species in this backish system and to study its abundance, larval recruitment and settlement.

Spatial distribution surveying was analyzed in subtidal and intertidal regions throughout the estuary. In the subtidal zone several species of bivalves were observed and the community was significantly different depending on the area of the estuary. *C. angulata* was more abundant in the Canal de Alcácer area, both in the subtidal zone and in the intertidal zone, and the organic matter contents and the average grain size of the sediment were the environmental variables that best explained the distribution of *C. angulata* in the subtidal region. In addition, the Portuguese oyster natural beds of the Canal de Alcácer, which have resisted the decline of the species in the Sado estuary, are the ones that are in better condition. New oyster beds were also identified more upstream than was known.

The highest abundances of *C. angulata* larvae were present in the plankton in spring when the water temperature reached 18 - 20 °C and the phytoplankton spring production was underway. Settlement was observed after that, from late May to late October. Although, it was not regular over the study period, nor uniform at the tested sites, clearly relevant was the successful settlement in areas where no fixation substrate was naturally available.

The results of this study indicate that it will be possible to help the recovery of the Portuguese oyster population of the Sado estuary by applying some management measures that facilitate the revitalization of natural beds.

Keywords: bivalve community, natural oyster beds, oyster larvae, settlement, natural populations restoration.

Índice

1. Introdução	2
1.1. Enquadramento	2
1.2. Objetivos	3
1.3. Área de Estudo.....	4
2. Distribuição dos bancos de ostra	9
2.1. Enquadramento	9
2.2. Metodologias	10
2.2.1. Amostragem	10
<i>Distribuição subtidal de ostras e comunidade de bivalves</i>	<i>10</i>
<i>Distribuição intertidal de ostras.....</i>	<i>12</i>
<i>Fatores ambientais.....</i>	<i>12</i>
2.2.2. Trabalho Laboratorial.....	12
<i>Distribuição subtidal de ostras e comunidade de bivalves</i>	<i>12</i>
<i>Fatores ambientais.....</i>	<i>12</i>
2.2.3. Análise de dados.....	13
<i>Distribuição subtidal de ostras e comunidade de bivalves</i>	<i>13</i>
<i>Influência dos fatores ambientais na estrutura da comunidade de bivalves</i>	<i>13</i>
<i>Amplitude e sobreposição de nicho ecológico</i>	<i>13</i>
<i>Distribuição de ostras</i>	<i>14</i>
<i>Distribuição intertidal e subtidal de C. angulata e O. stentina.....</i>	<i>14</i>
<i>Distribuição subtidal de C. angulata em função de fatores ambientais.....</i>	<i>14</i>
2.3. Resultados	16
2.3.1. <i>Distribuição subtidal de ostras e comunidade de bivalves</i>	<i>16</i>
2.3.2. <i>Influência dos fatores ambientais na estrutura da comunidade de bivalves</i>	<i>19</i>
2.3.3. <i>Amplitude e sobreposição de nicho ecológico</i>	<i>20</i>
2.3.4. <i>Distribuição de ostras</i>	<i>22</i>
<i>Distribuição intertidal e subtidal de C. angulata e O. stentina</i>	<i>23</i>
<i>Distribuição subtidal de C. angulata em função de fatores ambientais.....</i>	<i>25</i>
2.4. Discussão	27
3. Distribuição larvar e assentamento de ostra	31
3.1. Enquadramento	31
3.2. Metodologias	34
3.2.1. Amostragem	34
<i>Variáveis abióticas e bióticas.....</i>	<i>34</i>

<i>Temperatura e salinidade</i>	34
<i>Clorofila a e fitoplâncton</i>	34
<i>Larvas de ostra e de outros bivalves no zooplâncton</i>	35
<i>Experiências de assentamento de ostras</i>	36
3.2.2. <i>Trabalho Laboratorial</i>	38
<i>Variáveis bióticas</i>	38
<i>Clorofila a e fitoplâncton</i>	38
<i>Larvas de ostra e de outros bivalves no zooplâncton</i>	38
<i>Experiências de assentamento de ostras</i>	39
3.2.3. <i>Análise de dados</i>	39
<i>Experiência de assentamento de ostras</i>	39
<i>Assentamento: distribuição espacial</i>	39
<i>Assentamento: distribuição temporal</i>	40
3.3. Resultados	41
3.3.1. <i>Variáveis abióticas e bióticas</i>	41
<i>Distribuição temporal de temperatura e salinidade</i>	41
<i>Distribuição temporal de clorofila a e fitoplâncton</i>	43
3.3.2. <i>Larvas de ostra e de outros bivalves no zooplâncton</i>	44
<i>Distribuição temporal de abundância larvar de ostra e de outros bivalves</i>	44
<i>Distribuição temporal de abundância de estados larvares de ostra</i>	45
3.3.3. <i>Experiências de assentamento de ostras</i>	46
<i>Assentamento: visão geral</i>	46
<i>Assentamento: distribuição espacial</i>	47
<i>Assentamento: distribuição temporal em Lodaçal e Cachopos</i>	49
<i>Assentamento: distribuição diferencial na estrutura dos coletores</i>	51
3.3.4. <i>Variáveis abióticas e bióticas, fase larvar e assentamento</i>	52
3.4. Discussão	54
4. Considerações Finais	58
5. Referências bibliográficas	60

Lista de Figuras

- Figura 1.1. Localização geográfica do estuário do Sado na Península Ibérica. 7
- Figura 2.1. Ostras depuradas entre 1954 e 1972 em Portugal. Valores apresentados em milheiros (eixo à esquerda), para as ostras pequenas (pontos), médias (tracejado) e grandes (traço e ponto), e apresentados em toneladas (eixo à direita) para o total (traço contínuo a preto) de cada produção anual. Gráfico retirado de Vilela (1975). 9
- Figura 2.2. Localização das estações de amostragem subtidais estabelecidas para determinação da distribuição de ostra-portuguesa (*Crassostrea angulata*) e da comunidade de bivalves no estuário do Sado. O conjunto de estações de amostragem (escolhido aleatoriamente) é representativo da área potencial de distribuição de ostra-portuguesa e das diversas zonas do estuário do Sado. 11
- Figura 2.3. Ganchorra utilizada para a amostragem subtidal de ostra-portuguesa. Características do aro: diâmetro - 80,0 cm; largura - 60,0 cm; altura - 30,0 cm. Características do pente de dentes: quantidade - 13,0; comprimento - 12,0 cm; espessura - 1,0 cm; intervalo entre dentes - 1,5 cm. Características do saco de rede: comprimento - 230,0 cm; largura - 70,0 cm; malha - 3,0 cm. 11
- Figura 2.4. Mapa do estuário do Sado com a posição (estrelas) das estações de amostragem estudadas de 2 a 4 de julho de 2015. Cada estação de amostragem tem a si associado um gráfico circular onde se podem observar as espécies mais abundantes. As espécies representadas acima são: *Crassostrea angulata* (azul claro), *Ostrea stentina* (laranja), *Abra alba* (cinzento), *Cerastoderma glaucum* (amarelo), *Corbicula fluminea* (rosa), *Ensis ensis* (verde claro), *Macoma cumana* (roxo), *Mytilus edulis* (castanho escuro), *Ruditapes decussatus* (cinzento escuro), *Ruditapes philippinarum* (castanho claro), *Scrobicularia plana* (azul escuro), *Solen marginatus* (verde esuro), *Spisula subtruncata* (preto) e *Venus verrucosa* (vermelho). A zona do Esteiro da Marateca engloba os seguintes pontos de amostragem: 29, 31, 32, 33, 34 e 35. A zona da Baía Central está representada pelos pontos: 20, 21, 22, 23, 24 e 30. A zona do Canal Inferior inclui os seguintes pontos amostrais: 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 25, 26, 27 e 28. A zona do Canal Superior engloba os seguintes pontos de amostragem: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 e 12. 17
- Figura 2.5. Composição específica de bivalves, por estação de amostragem (arrasto), no estuário do Sado. As espécies representadas acima são: *Crassostrea angulata* (C_ang: círculo azul claro), *Ostrea stentina* (O_ste: triângulo laranja), *Abra alba* (A_alb: cinzento), *Cerastoderma glaucum* (C_gla: amarelo), *Corbicula fluminea* (C_flu: rosa), *Ensis ensis* (E_ens: verde claro), *Macoma cumana* (M_cum: roxo), *Mytilus edulis* (M_edu: castanho escuro), *Ruditapes decussatus* (R_dec: cinzento escuro), *Ruditapes philippinarum* (R_phi: castanho claro), *Scrobicularia plana* (S_pla: azul escuro), *Solen marginatus* (S_mar: verde esuro), *Spisula subtruncata* (S_sub: preto) e *Venus verrucosa* (V_ver: vermelho). Na categoria «outros» (violeta) estão as espécies de bivalves com menos que 4 indivíduos. (correspondiam a menos de 0,07 % da amostra total) – as espécies são: *Abra nitida* (0,034 %), *Arcopagia crassa* (0,017 %), *Chamelia gallina* (0,017 %), *Gari fervensis* (0,017 %), *Gibbomodiolus adriática* (0,068 %), *Modiolus modiolus* (0,017 %), *Musculus discors* (0,017 %), *Parvicardium pinnulatum* (0,034 %), *Polititapes rhomboides* (0,017 %), *Ruditapes sp.* (0,017 %), *Spisula solida* (0,034 %), *Venerupis senegalensis* (0,051 %). O número de indivíduos das espécies de

ostra (*Crassostrea angulata*, C_ang (círculo azul) e *Ostrea stentina*, O_ste (triângulo laranja)) referem-se ao eixo do lado direito do gráfico. As barras das estações 11 e 31 foram interrompidas para que fosse possível visualizar as restantes, o valor da contagem da espécie que foi interrompida está na extremidade superior da barra.

18

Figura 2.6. Sobreposição de fatores ambientais à ordenação MDS realizada para os dados de abundância da comunidade de bivalves do estuário do Sado (2D Stress: 0,1). Os números presentes no gráfico correspondem aos das estações de amostragem. Os símbolos correspondem às zonas do estuário: Canal Superior (triângulo verde), Canal Inferior (triângulo azul), Esteiro da Marateca (losango vermelho) e Baía Central (quadrado azul). Os dados ambientais incluem temperatura (Temperatura), distância de cada estação à foz (Distância à foz), teor em matéria orgânica total (MOT) e as classes de granulometrias (Cascalho, Areia grossa, Areia média, Areia fina e Vasa). Os vetores resultam de correlações de Spearman entre as variáveis ambientais e os dados de abundância das espécies de bivalves das estações de amostragem. A zona do Esteiro da Marateca engloba as seguintes estações de amostragem: 29, 31, 32, 33, 34 e 35. A zona da Baía Central está representada pelas estações: 20, 21, 22, 23, 24 e 30. A zona do Canal Inferior inclui as seguintes estações amostrais: 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 25, 26, 27 e 28. A zona do Canal Superior engloba as seguintes estações de amostragem: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 e 12.

20

Figura 2.7. Sobreposição de abundâncias de *C. angulata* à ordenação MDS para a comunidade de bivalves do estuário do Sado (2D Stress: 0,1). Os números presentes no gráfico correspondem aos das estações de amostragem e o tamanho dos círculos corresponde aos valores de abundâncias desta espécie transformados pela raiz quadrada e apresentados à direita do gráfico.

22

Figura 2.8. Sobreposição de abundâncias de *O. stentina* à ordenação MDS para a comunidade de bivalves do estuário do Sado (2D Stress: 0,1). Os números presentes no gráfico correspondem aos das estações de amostragem e o tamanho dos círculos corresponde aos valores das abundâncias desta espécie transformados pela raiz quadrada e apresentados na legenda do lado direito do gráfico.

23

Figura 2.9. Distribuição intertidal e subtidal de *C. angulata* e *O. stentina*. Pontos a amarelo correspondem a capturas subtidais de *C. angulata* e o tamanho é proporcional à sua abundância. Triângulos a laranja correspondem a capturas subtidais de *O. stentina* e o tamanho é proporcional à sua abundância. Manchas a roxo correspondem a bancos intertidais com elevada densidade populacional (número elevado de ostras vivas). Manchas a cor-de-rosa correspondem a bancos intertidais com menor densidade populacional (número reduzido de ostras vivas). Quadriculas mais pequenas e próximas entre si indicam bancos contínuos e quadriculas maiores indicam bancos com afloramentos dispersos. As secções de A a F são ampliações ao mapa apresentado.

24

Figura 3.1. Estados larvares do género *Crassostrea*, com indicação dos tamanhos (µm) e duração de cada fase no plâncton (dias). Adaptado de IFREMER/Argenton.

31

Figura 3.2. Contagem de larvas de ostras em amostras de plâncton colhidas no estuário do Sado nos anos 1963 a 1966. Gráfico retirado de Vilela (1975).

33

Figura 3.3. Distribuição das estações de amostragem de zooplâncton, clorofila *a* e fitoplâncton na área de estudo. Estão representadas todas as estações que fizeram parte do projeto CrassoSado em que este trabalho esteve inserido, contudo, apenas as estações 3 e 4, no final do Canal de Alcácer, foram analisadas neste documento.

35

Figura 3.4. Distribuição dos locais selecionados para as experiências de assentamento realizadas no Canal de Alcácer. A: banco Monte da Pedra; B: banco Batalha; C: Lodaçal; D: banco Cachopos. 36

Figura 3.5. Fotografia de um coletor num dos locais de amostragem. O coletor é composto por seis meios tubos (telhas) de PVC, de aproximadamente 50 cm, distribuídos em três andares: superior, intermédio e inferior. As faces das telhas foram designadas externa e interna (parte de fora e parte de dentro do tubo, respetivamente). 37

Figura 3.6. Fotografia de uma telha com ostras e cracas assentadas e com sobreposição da grelha de auxílio à contagem. A grelha apresentava seis quadrículas de 8,0 x 8,0 cm. 39

Figura 3.7. Temperatura (painel superior) e salinidade (painel inferior) registadas continuamente (a cada 10 min), com sensores CTD Star Oddi, no estuário do Sado. Um dos sensores esteve colocado junto à ponte ferroviária sobre o canal de Alcácer (a verde, SM: sensor montante) e o outro numa boia de sinalização de navegação perto do terminal naval da Mitrena (a azul, SJ: sensor jusante). No período compreendido entre o início de junho e o início de agosto de 2015 os dados são de baixa confiança, por o sensor ter apresentado anomalias. 42

Figura 3.8. Evolução da temperatura da água do estuário do Sado (curva a vermelho), registada com o sensor (CTD Star Oddi) fundeado no pilar da ponte ferroviária sobre o Canal de Alcácer, junto ao banco Batalha, e da temperatura do ar (curva a verde) registada na estação meteorológica do IPMA de Alcácer do Sal. As temperaturas do ar registadas são as médias dos últimos 10 minutos de cada hora. 42

Figura 3.9. Evolução sazonal dos valores médios \pm desvio padrão da concentração de clorofila *a* (mg/m^3), durante o período em estudo (periodicidade quinzenal de março a dezembro de 2015, periodicidade mensal de dezembro de 2015 a março de 2016), no estuário do Sado (estações 3 e 4). 43

Figura 3.10. Evolução das concentrações totais de células de fitoplâncton (células por litro) e das concentrações de células com tamanhos inferiores a 30 μm , em cada mês de amostragem, no estuário do Sado (estação 3). 44

Figura 3.11. Variação temporal da abundância ($\text{ind.}/\text{m}^3$) de larvas de *C. angulata* (a azul) e de outros bivalves (a laranja) entre março de 2015 e março de 2016, nas estações de amostragem 3 (gráfico superior) e 4 (gráfico inferior) estabelecidas no estuário do Sado. 45

Figura 3.12. Variação temporal da abundância ($\text{ind.}/\text{m}^3$) dos diversos estados larvares de *C. angulata*: Larva D/ Estado I (a cinza escuro); Estado II (a cinza claro); Estado III (linha verde e os valores correspondem ao eixo da direita); e Estado IV (a rosa); entre março de 2015 e março de 2016, nas estações de amostragem 3 (painel superior) e 4 (painel inferior) estabelecidas no estuário do Sado. 46

Figura 3.13. Proporção relativa de assentamento de *C. angulata* (a) e de *O. stentina* (b), nos vários locais estudados do estuário do Sado, desde 20 de abril de 2015 a 24 de março de 2016. Foram tidos em conta os dados totais de fixação de ostras em cada local. No banco Monte da Pedra (a verde) foram recolhidas 227 ostras, no banco Batalha (a roxo) foram recolhidas 48 ostras, no Lodaçal (a vermelho) foram recolhidas 514 ostras e no banco Cachopos (a amarelo) foram recolhidas 10451 ostras. Das 11240 ostras que se fixaram aos coletores, 2,5 % não foram identificáveis e foram proporcionalmente distribuídas pelas duas espécies identificadas. 48

Figura 3.14. Proporções entre *C. angulata*, a azul, e *O. stentina*, a laranja (eixo da esquerda); e número absoluto de indivíduos assentados de *C. angulata*, pontos azuis-escuros, e de *O. stentina*, pontos amarelos (eixo da direita); durante o período em estudo para o local Lodaçal (painel superior) e para o local do banco Cachopos (painel inferior). O Lodaçal perdeu um dos coletores em junho (Jun_Jul) e outro em outubro (Out_Nov). O banco Cachopos perdeu um dos coletores nos meses junho (Jun_Jul), julho (Jul_Ago) e setembro (Set_Out); em maio (Abr_Mai) não foi possível recolher coletores, sendo recuperados na data seguinte, os dados correspondem ao período entre abril e junho (Abr_Jun).

50

Figura 3.15. Assentamento por patamares (a) e assentamento por faces das telhas (b – exterior; c – interior). Assentamento diferencial relativo de *C. angulata* e *O. stentina* na estrutura do coletor ((a) eixo da esquerda) e número absoluto de indivíduos assentados de *C. angulata*, pontos azuis-escuros, e de *O. stentina*, pontos amarelos ((a) eixo da direita); dados referentes a todos os locais de amostragem e à totalidade do período em estudo (de 20 de abril de 2015 a 24 de março de 2016).

52

Figura 3.16. Sumário dos resultados obtidos para as estações 3 (painel superior) e 4 (painel inferior) da amostragem de plâncton no estuário do Sado. Estão representadas por barras azuis as abundâncias de larvas de *C. angulata* (ind/m³) em cada estação; pela linha verde as concentrações médias \pm desvio padrão de clorofila *a* (mg/m³) em cada estação; pela linha laranja as temperaturas (°C) medidas pontualmente em cada estação; por pontos pretos os registos de assentamento no Lodaçal (valores apresentados em número de indivíduos multiplicados por 100 para ser possível visualizar no eixo à esquerda) e por pontos vermelhos os registos de assentamento no banco Cachopos (valores apresentados em número de indivíduos multiplicados por 10 para ser possível visualizar no eixo à esquerda). A linha roxa (abaixo do eixo horizontal) representa o período de assentamento.

53

Índice de Tabelas

Tabela 2.1. Testes pareados complementares ao teste PERMANOVA (pseudo-F=3,8248; P(permutation)= 0,001) realizado para averiguar se a estrutura das comunidades de bivalves do estuário do Sado variou em função da zona do sistema.	19
Tabela 2.2. Amplitude de Nicho Ecológico – índice de <i>Shannon-Wiener</i> para as principais espécies de bivalves do estuário do Sado. As espécies com valores mais altos são as espécies mais generalistas na ocupação do sistema.	21
Tabela 2.3. Sobreposição de nicho – índice de <i>Horn</i> entre as principais espécies de bivalves do estuário do Sado. Considera-se sobreposição de nicho ecologicamente significativa quando o valor é igual ou maior que 0,6. Os valores obtidos são referentes a cada par de espécies e quando mais altos, maior é o potencial competitivo dentro do par. Os nomes científicos das espécies estão apresentados de forma abreviada: C_ang - <i>Crassostrea angulata</i> ; O_ste - <i>Ostrea stentina</i> ; A_alb - <i>Abra alba</i> ; C_gla - <i>Cerastoderma glaucum</i> ; C_flu - <i>Corbicula fluminea</i> ; E_ens - <i>Ensis ensis</i> ; M_cum - <i>Macoma cumana</i> ; M_edu - <i>Mytilus edulis</i> ; R_dec - <i>Ruditapes decussatus</i> ; R_phi - <i>Ruditapes philippinarum</i> ; S_pla - <i>Scrobicularia plana</i> ; S_mar - <i>Solen marginatus</i> ; S_sub - <i>Spisula subtruncata</i> ; V_ver - <i>Venus verrucosa</i> .	21
Tabela 2.4. Escolha do melhor modelo explicativo da distribuição subtidal de <i>C. angulata</i> em função de fatores ambientais. São apresentados os valores de AIC, as variáveis preditoras (fatores ambientais) e a percentagem de explicação total do modelo escolhido.	26
Tabela 2.5. Caracterização dos preditores (variáveis ambientais) que constituem o modelo selecionado para a explicação da distribuição subtidal de <i>C. angulata</i> no estuário do Sado. Para cada preditor são apresentados os valores do coeficiente de regressão, o desvio residual, o valor estatístico associado ao teste do χ^2 (<i>p-value</i>) e a percentagem de explicação.	26
Tabela 3.1. Coletores colocados e retirados regularmente dos vários locais (Monte da Pedra, Batalha, Lodaçal e Cachopos) durante o período experimental. A data do lado esquerdo da barra de cada coletor corresponde à data em que este foi colocado no local de amostragem e a data do lado direito corresponde à data em que este foi retirado. Os coletores do mesmo local estão coloridos com a mesma cor, a verde o banco Monte da Pedra, a roxo o banco Batalha, a vermelho o Lodaçal e a amarelo o banco Cachopos. Os coletores assinalados com “x” e de cor cinzenta não foram recuperados. De 13 de janeiro a 24 de março de 2016 apenas o banco Batalha teve coletores operacionais.	37
Tabela 3.2. Comparação do número de ostras fixas nos coletores nos diversos locais de assentamento. Foram utilizados os dados totais das contagens das duas espécies identificadas (<i>C. angulata</i> e <i>O. stentina</i>). Resultado do teste principal da PERMANOVA: pseudo-F= 9,0532; P(permutation)= 0,001; P(MC)=0,001.	48
Tabela 3.3. Comparação do número de exemplares <i>C. angulata</i> presentes nos coletores nos diversos locais da experiência de assentamento. Resultado do teste principal da PERMANOVA: pseudo-F= 10,065; P(permutation)= 0,001; P(MC)=0,001.	48

Tabela 3.4. Comparação do número de efetivos de *O. stentina* nos coletores presentes nos diversos locais de amostragem. Resultado do teste principal da PERMANOVA: pseudo-F= 8,6867; P(perm)= 0,001; P(MC)=0,001.

49

Tabela 3.5. Comparação entre locais para o mesmo intervalo de tempo (de 4 de agosto a 2 de setembro de 2015 e de 20 de abril a 3 de junho de 2015). Apenas são apresentados os resultados que evidenciaram diferenças significativas (na interação entre os dois fatores data e local). Resultado do teste principal: [Data] pseudo-F= 11,013; P(perm)= 0,003; P(MC)= 0,001. [Local] pseudo-F= 40,128; P(perm)= 0,001 P(MC)= 0,001. [Da*Lo] pseudo-F= 9,789; P(perm)= 0,006 P(MC)= 0,001.

51

Tabela 3.6. Evolução temporal do assentamento em cada local. Apenas são apresentados os resultados que evidenciaram diferenças significativas (na interação entre os fatores data e local). Resultado do teste principal da PERMANOVA: [Data] pseudo-F= 11,013; P(perm)= 0,003; P(MC)= 0,001. [Local] pseudo-F= 40,128; P(perm)= 0,001 P(MC)= 0,001. [Da*Lo] pseudo-F= 9,789; P(perm)= 0,006 P(MC)= 0,001.

51

Capítulo 1

Introdução

1. Introdução

1.1. Enquadramento

Na pré-história, a exploração ostreícola consistia na apanha destes moluscos do meio natural para consumo momentâneo e, muito raramente, para os colocar em zonas mais acessíveis, facilitando a apanha quando fosse necessário (Vilela, 1975). Na Europa, no primeiro século antes de Cristo, com um procônsul do Império Romano, de seu nome Sergius Orata, foram criados os primeiros «parques ostreícolas» em Nápoles. Estes situavam-se nos lagos de Lucrino e de Fusaro e recebiam ostras de diferentes zonas da Europa (Vilela, 1975). Posteriormente, há relatos sobre o cultivo de ostras noutros locais de Itália, em Constantinopla (Turquia), na foz do Tamisa (Inglaterra), nos Países Baixos, em França, em Espanha e nos países nórdicos, mas nestes últimos sem grande sucesso, devido às condições ambientais menos favoráveis destas regiões. É de notar que nos Países Baixos a ostreicultura sofreu grande declínio após a construção do dique de proteção costeira (Vilela, 1975). O cultivo mundial de ostras tem vindo a aumentar, de poucas centenas de milhares, em 1950, a milhões de toneladas por ano desde 1984 até ao presente. Nos últimos anos, a produção de ostras, em geral, ronda os 5 000 000 t/ano sendo a Ásia a região mais produtiva (FAO, 2016).

Em Portugal, existem quatro espécies de ostra, *Crassostrea angulata* (ostra-portuguesa), *Ostrea edulis* (ostra-plana), *Ostrea stentina* (ostra-anã) e *Ostrea cochlear*, contudo, devido às suas características, apenas *O. edulis* e *C. angulata* são exploradas comercialmente (Vilela, 1975; Ruano, 1997).

A ostra-portuguesa (*Crassostrea angulata*) é um molusco bivalve popularmente conhecido como carcanhola, lostra, maranhão, marinhaque ou ostra gigante e assume uma notável importância mundial a nível económico, gastronómico e ecológico, sendo ainda um bioindicador relevante para a qualidade ambiental (Vilela, 1975; Dias e Nunes, 1994; Pessoa *et al.*, 2000; Ruano, 2008; Cross *et al.*, 2014).

Em termos globais, em 1975, a distribuição geográfica da ostra-portuguesa era descrita como tendo uma extensão desde a Bretanha até à costa de Marrocos, existindo também no Mar Mediterrâneo (Vilela, 1975). Mais recentemente, observou-se que a distribuição de ostra-portuguesa (*C. angulata*) é mais reduzida e, pontualmente, partilhada com a sua congénere ostra-japonesa (*Crassostrea gigas*). A ostra-portuguesa é encontrada em estuários e rias desde a zona centro de Portugal continental até à costa de Marrocos, com grande incidência no estuário do Sado, existindo também no sul de Espanha (Fabioux *et al.*, 2002; Silva *et al.*, 2008).

A distribuição das ostreiras depende de inúmeros fatores, tais como: as particularidades do substrato onde se fixam as larvas, a forma e a intensidade com que a água circula no habitat, a salinidade, a temperatura do meio e a disponibilidade de alimento. Além disso, existem outros fatores que podem ter grandes consequências nessa distribuição, como a rápida precipitação de materiais em suspensão (ex. vasa); a proliferação de doenças; a existência e a propagação de organismos comensais e competidores que podem evoluir para parasitas e/ou limitar o espaço e o alimento disponível; a pressão exercida pelos predadores naturais, como gastrópodes carnívoros, estrelas-do-mar, poliquetas, caranguejos, peixes e aves marinhas, sobre os indivíduos adultos, e as medusas sobre as formas larvares; a pressão exercida pelo Homem devido à grande procura no mercado; e a poluição (industrial, extrativa, agrícola e urbana). Estes fatores individualmente e o seu efeito cumulativo podem limitar os bancos naturais, tanto na sua distribuição espacial, como na abundância de indivíduos (Galtsoff, 1964; Ruano, 1997).

Historicamente, as ostreiras mais pujantes do estuário do Sado localizavam-se na Comporta, Carrasqueira, Ilha do Cavalo, Sachola, Longa, Monte da Pedra, Palma e Cachopos (Dias, 1994; Ruano

e Dias, 1994). Os bancos naturais que outrora ocupavam largos milhares de hectares, a partir da década de 1970 ficaram confinados à zona do canal de Alcácer, onde os escassos exemplares não garantiam uma exploração comercial (Dias, 1994; Ruano, 1997). A principal causa apontada para o declínio da atividade foi a poluição, pois era comum águas residuais industriais e urbanas serem encaminhadas para o estuário sem qualquer tratamento prévio (Vilela, 1975; Ruano, 1997). Fatores como a sobre-exploração, a inexistência de maternidades, a gestão ineficaz ou inexistente dos bancos ostreícolas, a utilização de tintas com componentes organo-estânicos (estaleiros navais) e a manifestação de várias doenças também contribuíram para o desaparecimento das populações naturais (Dias, 1994; Ruano, 1997). Atualmente, na zona do canal de Alcácer, regista-se uma recuperação dos bancos de ostra, bem como a expansão dos mesmos para montante (Dias, 1994; Anónimo, 2016). Simultaneamente, nos estudos desenvolvidos pelo projeto CrassoSado, também se observou alguma recuperação nas zonas da Carrasqueira (Anónimo, 2016).

A ostra-portuguesa é um molusco bivalve filtrador com um ciclo de vida complexo. É uma espécie eurialina que sobrevive, tanto em salinidades baixas (2 a 6), como a salinidades semelhantes às registadas em ambiente marinho, sendo geralmente encontrada em locais salobros e/ou estuarinos (Ruano, 1997). De facto, o genoma da ostra-portuguesa dá-lhe capacidades para sobreviver a condições abióticas típicas dos estuários, como flutuações constantes de salinidade, presença de elevadas concentrações de metais ou condições extremas de dessecação (Cross *et al.*, 2014).

A maior ameaça à conservação da ostra-portuguesa é a poluição dos habitats naturais (Ruano, 1997). O estuário do Sado é um bom exemplo onde as pressões humanas (*e.g.* zonas urbanas ou industriais) e os valores ecológicos (zona de importância ambiental) colidem (Caeiro *et al.*, 2005). Contudo, nos últimos anos têm sido aplicadas várias medidas ambientais e planos de gestão a estuários nacionais pela Agência Portuguesa do Ambiente (APA) e pelo Instituto da Conservação da Natureza e Florestas (ICNF), com o intuito de proteger e recuperar habitats e populações de espécies protegidas ou ameaçadas, valorizar as suas particularidades ambientais, gerir os recursos e assegurar a sustentabilidade dos ecossistemas estuarinos.

Este trabalho enquadrou-se no âmbito do projeto CrassoSado, uma parceria entre o Instituto da Conservação da Natureza e Florestas - Reserva Natural do Estuário do Sado (ICNF-RNES), Instituto Português do Mar e da Atmosfera (IPMA), Centro de Ciências do Mar e do Ambiente - Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa (MARE-UL) e Centro de Estudos do Ambiente e do Mar - Universidade de Aveiro (CESAM-UA), que surgiu no seguimento de medidas compensatórias previstas na Declaração de Impacte Ambiental do projeto “Nova fábrica de papel nas instalações de Setúbal da Portucel, S.A.”. Este projeto teve como principal objetivo atualizar a informação sobre a ostra-portuguesa no estuário do Sado e identificar e estudar os aspetos mais importantes para a conservação e a exploração sustentada da ostra-portuguesa no estuário do Sado.

1.2. Objetivos

Este estudo teve como objetivos principais investigar a atual distribuição dos bancos de ostra e do seu recrutamento larvar e assentamento no estuário do Sado.

Ainda que existam estudos anteriores sobre a distribuição de *C. angulata* no estuário do Sado, estes são relativos ao período de grande declínio da espécie e, como tal, estão desatualizados. Perante informações

recentes que apontam para a recuperação da espécie no local e à sua crescente importância económica, é necessário efetuar novamente o levantamento das áreas ocupadas por ostras. Para a aferição da distribuição atual de *C. angulata* traçaram-se os seguintes objetivos específicos:

- i. estudar a distribuição espacial de ostra no estuário do Sado;
- ii. estudar a comunidade de espécies bivalves acompanhantes de ostra no estuário do Sado;
- iii. relacionar os fatores ambientais com a estrutura dessa comunidade de bivalves;
- iv. analisar potenciais interações ecológicas entre as diferentes espécies de bivalves e a ostra através do estudo da sua amplitude e sobreposição de nichos;
- v. relacionar a distribuição espacial e a abundância de ostra com parâmetros ambientais.

A recuperação de *C. angulata* também carece do aumento das populações em meio natural e em aquacultura. Assim, o estudo sobre o recrutamento e assentamento larvar permitirá obter a informação necessária ao desenvolvimento de procedimentos técnicos que maximizem a eficácia do recrutamento da espécie. Neste sentido, estabeleceram-se os seguintes objetivos específicos:

- i. estudar a abundância e a distribuição temporal da fase larvar de *C. angulata*;
- ii. definir o início e a duração do período de assentamento larvar;
- iii. estudar as variações espaciais e temporais do assentamento;
- iv. relacionar a fase larvar com o assentamento e com parâmetros abióticos e bióticos.

1.3. Área de Estudo

O rio Sado nasce a cerca de 230 m de altitude, na serra da Vigia, a sudoeste de Ourique, tem uma extensão de aproximadamente 180 km e desagua no oceano Atlântico através de um canal estreito e profundo entre a península de Troia e a serra da Arrábida (Ferreira *et al.*, 2003). A sua bacia hidrográfica drena uma área de 7 692 km², abrangendo parte dos distritos de Beja, Évora e Setúbal (Freitas *et al.*, 2008).

O estuário do Sado, alongado e com uma orientação SE-NO, ocupa uma área de cerca 160 km², desde Alcácer do Sal até ao oceano Atlântico. A zona central, denominada de Baía Central, está parcialmente dividida em dois canais: o Canal Norte, onde predomina uma corrente superficial enchente que pode variar consoante a maré, e o Canal Sul, onde predomina uma corrente vazante mais forte; estes dois canais estão separados entre si por bancos de areia (Santos, 1991; Coutinho, 2003; Freitas *et al.*, 2008). A Baía Central tem cerca de 20 km de comprimento, 5 km de largura e profundidade média de 20 m, apresentando características eualinas (Wollast *et al.*, 1978; Santos, 1991; Oliveira e Coutinho, 1992). Apresenta ainda dois esteiros, o da Marateca e o da Comporta, com direção Norte e Sul, respetivamente. Estes exibem características eualinas ou polialinas em situações de maior carga pluvial (Oliveira e Coutinho, 1992).

As marés são semidiurnas (de preia-mar a preia-mar decorrem aproximadamente 12 horas e 55 minutos), com uma amplitude máxima de aproximadamente 3 m em marés vivas e de 0,76 m em marés mortas. Estas fazem-se sentir até cerca de 70 km da foz (Coutinho, 2003; Vale *et al.*, 1993).

É um estuário sem estratificação na maior parte do ano, mas algumas partes do sistema podem sofrer uma estratificação moderada nos meses de maior afluxo de água fluvial (Ferreira *et al.*, 2003). O caudal

oceânico de renovação de água varia entre os 250 e os $300 \times 10^6 \text{ m}^3$ por maré, não sendo suficientemente forte para garantir uma corrente vazante capaz de dispersar os poluentes dissolvidos ou em suspensão nos meses em que o afluxo de água fluvial é menor (Vilela, 1975; Ruano e Dias, 1994). É, então por isso, um estuário particularmente sensível a fontes de poluição.

A interface do ambiente límnico com o ambiente estuarino ocorre no canal de Alcácer, a leste, com uma extensão de aproximadamente 35 km, largura média de 700 m e profundidade média de 5 m (Coutinho, 2003). Deste canal, com propriedades mesoalinas, provém a maior porção do caudal de água doce do sistema, destacando-se o seu regime torrencial fortemente variável (Oliveira e Coutinho, 1992). Regista caudais fracos durante a época estival ($\approx 1 \text{ m}^3/\text{s}$) e caudais mais abundantes durante a época de maior carga pluvial ($\approx 60 \text{ m}^3/\text{s}$) (Cabeçadas *et al.*, 1994; Ferreira *et al.*, 2003). Estes são, contudo, difíceis de calcular, devido às obras de hidráulica efetuadas no seu leito (Ruano e Dias, 1994).

O estuário do Sado é o segundo maior estuário português e uma das zonas húmidas mais importantes da Europa (Ferreira, 2007). Apresenta grande diversidade de habitats como, por exemplo, zonas de macrófitas marinhas, zonas de ostras ou zonas com plataformas intertidais de vasa (Cabral, 1999). É um estuário que apresenta uma produção primária baixa a moderada. As concentrações de clorofila *a* podem variar entre 2 a 3 mg/m^3 na zona mais próxima da foz (estuário inferior), entre 5 a 10 mg/m^3 no esteiro da Marateca e entre 20 a 40 mg/m^3 no Canal de Alcácer (Cabeçadas *et al.*, 1994; Coutinho, 1994).

Segundo Coutinho (2003), a distribuição do fitoplâncton no estuário do Sado tem grande influência marinha. Na zona mais próxima da foz predominam espécies marinhas, sobretudo *Bacillariophyceae* do grupo Centrales, associadas a fenómenos de afloramento costeiro. Na zona média do estuário existem, tanto espécies marinhas, como espécies estuarinas, destacando-se as *Bacillariophyceae* do grupo Penales. Na zona superior, no Canal de Alcácer, em conjunto com as espécies de diatomáceas marinhas aparecem espécies de fitoflagelados e espécies do grupo *Dinophyceae*. A densidade do fitoplâncton aumenta de jusante para montante, variando entre poucos milhares a centenas de milhares de células por litro (Coutinho, 1994; Coutinho, 2003).

A comunidade de zooplâncton existente no estuário não é conhecida com detalhe na sua totalidade, no entanto Monteiro (1996) refere copépodes e rotíferos como as frações mais abundantes no estuário. Para além destas observações é comum, tal como nos restantes estuários portugueses, o domínio de grupos como Copepoda, Cladocera, e uma proporção importante de organismos meroplânctónicos tais como as larvas de diversos Mollusca, Cirripedia, Decapoda, Polychaeta, hidrozoários entre outros (Marques *et al.*, 2006; Gonçalves *et al.*, 2010; Muha *et al.*, 2012). As larvas de peixes constituem também uma parcela considerável no zooplâncton estuarino (Ré, 1999).

No estuário do Sado, a comunidade de invertebrados é representada por, pelo menos, 592 espécies, das quais se destacam 228 de poliquetas, 193 de crustáceos, 81 de bivalves e, pelo menos, 4 de cefalópodes (dos Santos, 1998).

Devido à localização geográfica do estuário (fig. 1.1.), as espécies ictícas apresentam afinidades com o Atlântico Norte e o Mediterrâneo. A comunidade ictíca do estuário é constituída por 111 espécies, que se dividem pelos seguintes grupos fenológicos: residentes, ocasionais dulçaquícolas, ocasionais marinhas, marinhas que utilizam o estuário como área de viveiro, migradoras catádromas e migradoras anádromas. As famílias com maior representatividade de espécies são: Sparidae, Soleidae, Labridae e Gobiidae. A montante, apesar de existir menor diversidade de espécies, estas apresentam maiores abundâncias, a jusante observa-se maior riqueza específica devido à proximidade com o oceano (Cabral, 1999). O estuário é também um importante local de residência, de passagem ou de invernada para um

grande número de espécies de aves aquáticas (dos Santos, 1998). No que diz respeito a mamíferos marinhos, há registos da presença de lontas (*Lutra lutra*) na zona superior do estuário (Trindade, 1996) e uma população residente de cerca de 27 indivíduos de roaz-corvineiro (*Tursiops truncatus*) (ICNF).

As pressões sobre o estuário do Sado são diversas, algumas contíguas ao sistema, outras ao longo da respetiva bacia hidrográfica afluente. As maiores pressões urbanas e industriais concentram-se na margem norte, perto da cidade de Setúbal; mais dispersas estão algumas zonas dedicadas à agricultura e à aquacultura. Na margem sul destacam-se os empreendimentos turísticos de Troia, que representam pressões apenas sazonais. Relativamente à bacia hidrográfica do rio Sado, as atividades que predominam são a agricultura; a pecuária, a manutenção e exploração de terrenos florestais e a extração mineira (lixiviação de gangas expostas) (Freitas *et al.*, 2008). Setúbal possui 12 Estações de Tratamento de Águas Residuais (ETAR's), 7 das quais drenam a água tratada para o rio Sado ou para linhas de água tributárias. Aliada a esta rede, existe ainda outra ETAR num dos parques industriais do município. A mais antiga data de 1985 (Aldeia Grande) e a mais recente data de 2008 (Gâmbia). A ETAR que trata as águas residuais da zona urbana foi construída em 2002.

O estuário do Sado adquiriu ao longo do tempo vários estatutos de proteção, para que haja um equilíbrio entre a exploração de recursos e a sua integridade natural. Os que mais se destacam são a *Reserva Natural do Estuário do Sado* (DL n° 430/80, de 1 de outubro) e a *Zona Especial de Conservação - Sítio PTCON0011 Estuário do Sado* (pela Diretiva Habitats 92/43/CEE transposta para o direito nacional pela Resolução de Conselho de Ministros n° 142/97, de 28 de agosto), estando igualmente inserido na rede de sítios Ramsar, desde 1996. Em águas costeiras, perto da foz, situa-se o *Parque Marinho Professor Luiz Saldanha* (Decreto Regulamentar n° 23/1998 de 14 de outubro com as alterações introduzidas pelo Decreto Regulamentar n° 11/2003 de 8 de maio – reclassificação do Parque Natural da Arrábida e criação do Parque Marinho Professor Luiz Saldanha).



Figura 1.1. Localização geográfica do estuário do Sado na Península Ibérica.

Capítulo 2

Distribuição dos bancos de ostra

2. Distribuição dos bancos de ostra

2.1. Enquadramento

Entre a década de 30 e a de 40 do séc. XX foram consideradas insalubres as ostras do Tejo e do Sado, dois dos maiores polos de produção nacional, no entanto, a criação de postos de depuração de ostras nos anos 50 fez com que o setor tivesse uma época de grande prosperidade até aos anos de 1970 (Vilela, 1975). Na década de 1960, as empresas ligadas à exploração de ostra tinham associados cerca de 4 000 trabalhadores e cerca de 2 400 ha de terrenos concessionados do D.P.M. (Domínio Público Marítimo). Em particular, entre 1964 e 1972, Portugal exportou mais de 50 000 t de ostras para França, adquirindo este recurso um grande significado nas trocas comerciais entre os dois países (Dias, 1994). Na figura 2.1. observa-se a evolução dos quantitativos de ostras depuradas de 1954 a 1972, em Portugal. Neste período, os anos com maior depuração de ostras foram 1965 e 1971, quando predominaram ostras depuradas de tamanho médio (Vilela, 1975).

A ostra-portuguesa tornou-se então um importante recurso nacional até aos anos 70 do séc. XX, atingindo mesmo um nível próximo do industrial. Porém, a poluição das águas estuarinas pelos diversos setores e patologias graves generalizadas, bem como a forte sobre-exploração dos bancos naturais, levaram ao declínio da espécie na região. Os estuários portugueses com maior representatividade da espécie (Tejo e Sado) tiveram então uma redução quase total da área ocupada por ostras (Dias, 1994; Ruano, 1997). Os bancos naturais passaram a ser vestigiais, persistindo apenas pequenos afloramentos no estuário do Sado, na zona do canal de Alcácer. Neste sistema, nos anos mais recentes tem-se observado uma recuperação gradual de alguns dos bancos naturais e observou-se alguma expansão da espécie para montante no canal de Alcácer, em zonas não identificadas anteriormente (Anónimo, 2016).

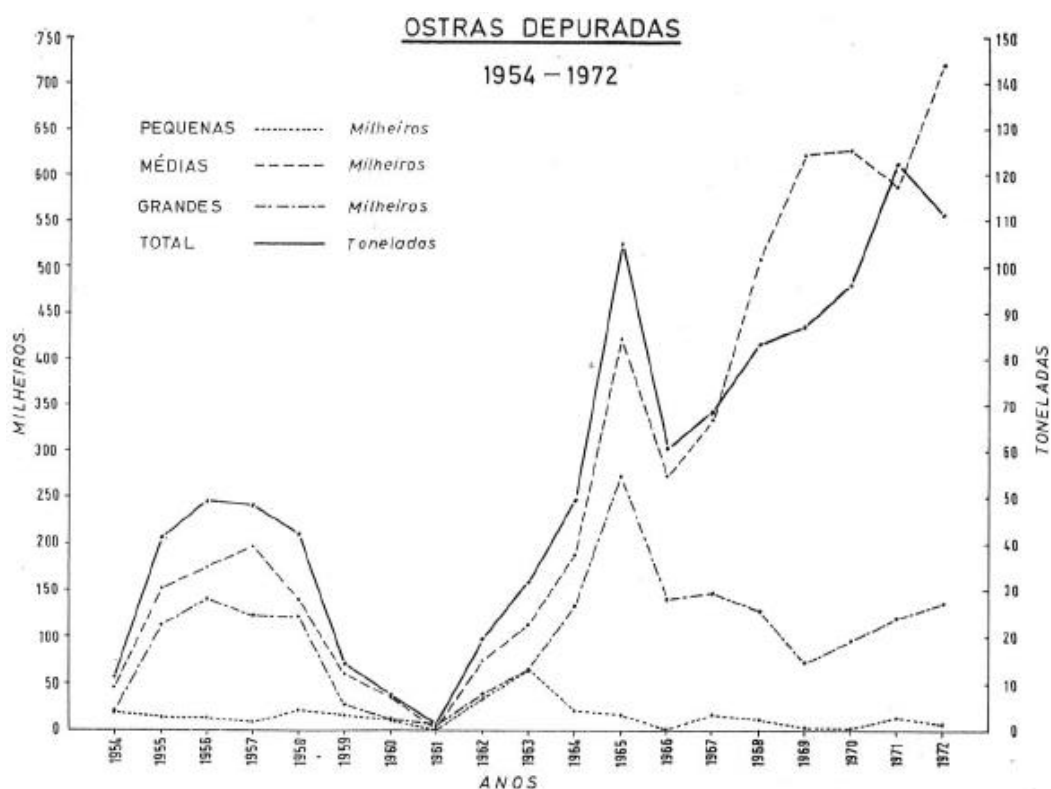


Figura 2.1. Ostras depuradas entre 1954 e 1972 em Portugal. Valores apresentados em milheiros (eixo à esquerda), para as ostras pequenas (pontos), médias (tracejado) e grandes (traço e ponto), e apresentados em toneladas (eixo à direita) para o total (traço contínuo a preto) de cada produção anual. Gráfico retirado de Vilela (1975).

Em ambiente natural, os bancos ostreícolas localizam-se em zonas intertidais e subtidais estuarinas de pouca profundidade, em substratos rígidos de fundos móveis, podendo ser observadas a vários quilómetros da foz do estuário onde ser inserem (Ruano, 1997). Em geral, os substratos são compostos por vasa, areia vasosa, cascalho vasoso ou até mesmo materiais diversos construídos pelo Homem. O facto de a maioria das ostras se localizar em zonas intertidais deve-se ao decréscimo da intensidade de corrente nas margens, que para além de permitir a sedimentação de materiais em suspensão, permite a fixação de larvas e a formação de bancos (Vilela, 1975; Freitas *et al.*, 2008).

Atualmente, na envolvente do estuário do Sado, existem 40 explorações aquícolas autorizadas a produzir ostra, das quais cerca de 20 são efetivamente ostreiculturas. Localizam-se maioritariamente na margem norte do estuário e cada uma emprega, em média, uma pessoa a tempo inteiro. A semente é proveniente de França e, em alguns casos, é feita transposição de exemplares adultos de bancos naturais do Canal de Alcácer. A partir do momento que as ostras atingem o tamanho comercial são maioritariamente vendidas para o mercado nacional e uma pequena parte para o mercado comunitário (informação cedida por departamento de aquicultura - DGRM, 2016).

Neste capítulo desenvolve-se o estudo sobre a atual distribuição espacial de ostra no estuário do Sado. Estuda-se a comunidade de bivalves e de que forma os fatores ambientais afetam a sua estrutura. Relaciona-se a amplitude e sobreposição de nicho ecológico das outras espécies de bivalves com as das ostras. Por fim, explora-se a relação entre a distribuição de *C. angulata* com as variáveis ambientais.

2.2. Metodologias

2.2.1. Amostragem

Distribuição subtidal de ostras e comunidade de bivalves

Para a determinação da distribuição da espécie em estudo e das várias espécies de bivalves presentes no estuário do Sado, realizaram-se campanhas de amostragem ao longo do sistema, com especial incidência nos bancos naturais intertidais e subtidais de ostra. A campanha direcionada à zona subtidal decorreu de 2 a 4 de julho de 2015, tendo sido selecionado de forma aleatória um conjunto de estações de amostragem representativo da área potencial de distribuição de ostra-portuguesa e das diversas zonas do estuário do Sado. Realizaram-se 35 arrastos com ganchorra (fig. 2.2. e fig. 2.3.), com duração de 1 minuto cada, a uma velocidade média de 1 a 2 nós.

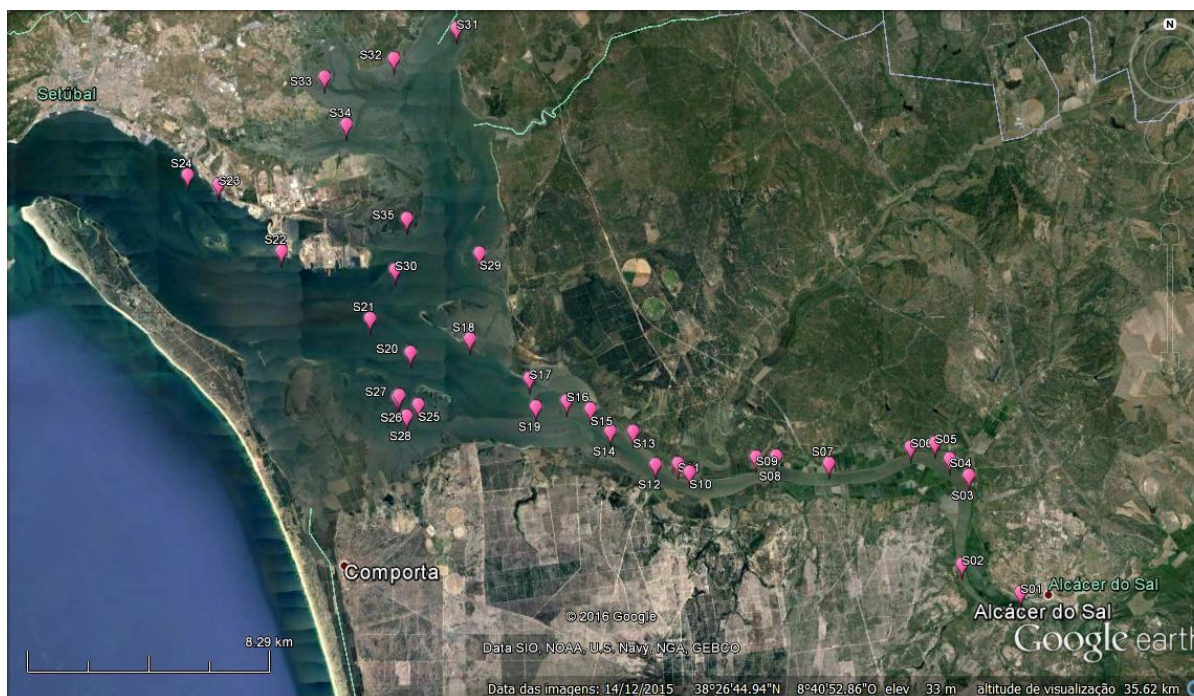


Figura 2.2. Localização das estações de amostragem subtidais estabelecidas para determinação da distribuição de ostra-portuguesa (*Crassostrea angulata*) e da comunidade de bivalves no estuário do Sado. O conjunto de estações de amostragem (escolhido aleatoriamente) é representativo da área potencial de distribuição de ostra-portuguesa e das diversas zonas do estuário do Sado.



Figura 2.3. Ganchorra utilizada para a amostragem subtidal de ostra-portuguesa. Características do aro: diâmetro - 80,0 cm; largura - 60,0 cm; altura - 30,0 cm. Características do pente de dentes: quantidade - 13,0; comprimento - 12,0 cm; espessura - 1,0 cm; intervalo entre dentes - 1,5 cm. Características do saco de rede: comprimento - 230,0 cm; largura - 70,0 cm; malha - 3,0 cm.

Distribuição intertidal de ostras

A amostragem direcionada aos bancos intertidais do estuário decorreu em várias campanhas, entre novembro de 2015 e fevereiro de 2016. Os bancos foram geo-referenciados e foi anotada a sua composição e densidade de ostras (vivas e conchas - avaliação qualitativa).

Fatores ambientais

Em cada estação de amostragem do subtidal foram medidos parâmetros ambientais simultaneamente com a captura dos organismos, para estudar a sua relação com a composição e distribuição das comunidades. Em cada local, com uma sonda multiparamétrica YSI, efetuaram-se registos de profundidade e temperatura, e através de dragagem foram recolhidas amostras de sedimento para determinação da granulometria e do seu teor em carbono orgânico (%).

2.2.2. Trabalho Laboratorial

Distribuição subtidal de ostras e comunidade de bivalves

Em laboratório, os organismos presentes nos arrastos realizados nas 35 estações estabelecidas no subtidal foram contados, medidos, pesados (peso fresco), identificados até à espécie (sempre que possível) e preservados em álcool a 70 % para esclarecimento futuro de dúvidas.

Fatores ambientais

Determinou-se ainda no laboratório a granulometria das amostras de sedimento, após secagem a 60 °C, e passagem através de uma coluna de 4 crivos (0,063 mm; 0,250 mm; 0,500 mm e 2,000 mm) do tipo “AFNOR”, tendo as frações sedimentares sido classificadas da seguinte forma:

- Cascalho (> 2,000 mm);
- Areia grossa (0,500 - 2,000 mm);
- Areia média (0,250 - 0,500 mm);
- Areia fina (0,063 - 0,250 mm);
- Vasa (< 0,063 mm).

O teor do sedimento em carbono orgânico foi determinado pela diferença entre os pesos de uma amostra seca a 60 °C, numa estufa, durante 24 horas (obtendo-se um peso estável ao fim desse tempo), e o peso da mesma amostra após combustão numa mufla a 550 °C, durante 4 horas. Este procedimento foi repetido para cada uma das 35 estações de amostragem.

2.2.3. Análise de dados

Distribuição subtidal de ostras e comunidade de bivalves

Uma vez que estavam disponíveis dados de abundância e de biomassa para as diferentes espécies de bivalves, foi determinada a correlação (Spearman) entre estas variáveis, para o conjunto dos *taxa*, para verificar o seu grau de redundância em termos de tratamento estatístico dos dados obtidos.

Para a análise dos padrões de distribuição espacial da comunidade de bivalves no subtidal foi efetuada uma ordenação por *MDS* (Multi Dimensional Scaling) a partir de uma matriz de similaridade de Bray-Curtis sobre os dados transformados (raíz quadrada) (Clarke and Warwick, 2001). Para comparação da estrutura das comunidades de bivalves das zonas identificadas pela análise multivariada utilizou-se o teste estatístico PERMANOVA (Anderson *et al.*, 2008).

Influência dos fatores ambientais na estrutura da comunidade de bivalves

Para determinar a relação entre os dados ambientais e os da comunidade de bivalves usou-se o coeficiente de correlação de spearman sobreposto à ordenação MDS sob a forma de vetores: temperatura, distância de cada estação de amostragem à foz (em km), teor em matéria orgânica no sedimento e classes de granulometria.

Amplitude e sobreposição de nicho ecológico

Para comparação de algumas características ecológicas das diferentes espécies de bivalves, calcularam-se ainda os índices de diversidade Shannon-Wiener e de Horn (Krebs, 2014) (Equação 2.1. e equação 2.2.). Com o índice de Shannon-Wiener procurou-se perceber quais as espécies generalistas ou especialistas e a sua capacidade de ocupação de diversos habitats ao longo do sistema (amplitude de nicho). Quanto maior for valor obtido mais generalista é a espécie analisada. Com o índice de Horn pretendeu-se determinar quais os pares de espécies com maior potencial de competição, com particular destaque para a espécie em estudo, a ostra-portuguesa. O Índice de *Horn* varia entre 0 e 1 e valores superiores a 0,6 são normalmente considerados indicadores de uma sobreposição ecologicamente relevante (Wallace e Ramsey, 1983). Estes índices foram calculados a partir das fórmulas descritas abaixo.

Equação 2.1. Índice de Shannon-Wiener:

$$H' = - \sum_j^n \hat{p}_j \log \hat{p}_j$$

H' = Índice de diversidade de Shannon-Wiener;

p_j = Proporção de indivíduos que foram registados nas estações de amostragem ($j= 1, 2, 3, \dots n$);

n = Número total de estações de amostragem.

Equação 2.2. Índice de Horn:

$$\hat{R}_o = \frac{\sum (\hat{p}_{ij} + \hat{p}_{ik}) \log(\hat{p}_{ij} + \hat{p}_{ik}) - \sum \hat{p}_{ij} \log \hat{p}_{ij} - \sum \hat{p}_{ik} \log \hat{p}_{ik}}{2 \log 2}$$

R_o = Índice de Horn de sobreposição para os pares de espécies j e k ;

p_{ij} = Proporção das estações i para o total de estações que registaram a espécie j ;

p_{ik} = Proporção das estações i para o total de estações que registaram a espécie k .

Distribuição de ostras

Distribuição intertidal e subtidal de *C. angulata* e *O. stentina*

Para uma melhor percepção da distribuição geral de ostra na área de estudo elaborou-se um mapa (*ArcGis*). Nele as estações da amostragem pontual com ganchorra foram representadas segundo a abundância de ostras registada e foram também representados os bancos ostreícolas da zona intertidal do estuário, de acordo com densidade e continuidade dos mesmos.

Distribuição subtidal de *C. angulata* em função de fatores ambientais

Para simplificar os cálculos referentes à análise das relações entre a abundância de ostras e os diversos parâmetros ambientais, no caso da granulometria dos sedimentos usou-se uma medida do tamanho médio do grão do sedimento (Phi ou ϕ) (Equação 2.3.). Quanto maior for o valor de Phi, maior a quantidade de elementos finos no sedimento (Blott e Pye, 2001).

Equação 2.3. Cálculo do Phi (ϕ):

$$\phi = 1 + \left(\frac{\left(\frac{-1 * \text{Cascalho}}{100} \right) + \left(\frac{1 * \text{Areia grossa}}{100} \right) + \left(\frac{2 * \text{Areia média}}{100} \right) + \left(\frac{3 * \text{Areia fina}}{100} \right) + \left(\frac{4 * \text{Vasa}}{100} \right)}{5} \right)$$

Para explicar a distribuição de *C. angulata* na zona subtidal do estuário do Sado em função de fatores ambientais elaborou-se um modelo GLM (modelo linear generalizado) em ambiente R (R Core Team, 2016), com o auxílio do software Rstudio V 0.99.842 (2009-2016, RStudio, Inc.). Os GLM são modelos lineares simples, alterados de modo a conterem distribuições não normais das variáveis resposta e ser possível incorporar transformações das variáveis dependentes (McCullagh e Nelder, 1989). Esta característica é relevante devido ao elevado número de zeros que compõem a variável resposta (abundâncias de ostra) (Monteiro, 2015).

Os dados selecionados para integrar o modelo foram os relativos às abundâncias subtidais de ostra-portuguesa (*C. angulata*) obtidos na campanha que decorreu de 2 a 4 de julho de 2015. As variáveis ambientais com potencial para integrar o modelo foram as variáveis que apresentaram elevada variabilidade espacial: “DistFozKm - Distância à foz em Km”, “MOT – teor em matéria orgânica no sedimento” e “PHI – tamanho médio do grão do sedimento”. As restantes variáveis medidas, por variarem consoante a maré (variam mais temporalmente do que espacialmente), não foram consideradas com potencial para integrar o modelo.

Para obtenção do modelo final usou-se a distribuição de Poisson e a função step (*library* MASS - Venables e Ripley, 2002), que seleciona um modelo entre o modelo nulo (sem preditores) e o modelo saturado (que utiliza a totalidade das variáveis preditoras). Na seleção do melhor modelo teve-se em conta o critério AIC (“Akaike information criterion”), o qual estima a informação perdida pelo modelo e deve ter o valor mais baixo possível.

Foram ainda calculadas características do modelo como a explicação total, a explicação de cada preditor, o coeficiente de regressão de cada variável e os seus desvios residuais, com recurso a uma ANOVA com o teste de χ^2 . O nível de significância considerado para todas as etapas da modelação foi de 0,05.

2.3. Resultados

2.3.1. Distribuição subtidal de ostras e comunidade de bivalves

O delineamento experimental permitiu determinar a distribuição de ostra-portuguesa no estuário do Sado e também da restante comunidade de bivalves. Foram contabilizadas 26 espécies de bivalves e um total de 5862 indivíduos deste grupo. As espécies dominantes em termos numéricos foram *Ostrea stentina* (52 %), *Cerastoderma glaucum* (13 %), *C. angulata* (12 %) e *Scrobicularia plana* (11 %). Situação diferente foi encontrada para os dados da biomassa, que evidenciaram como espécies dominantes *C. angulata* (70 %) e *O. stentina* (12 %).

O teste de correlação de Spearman revelou que, em termos globais, os dados referentes ao número de indivíduos capturados estão significativamente correlacionados com os da respetiva biomassa ($r_s = 0,97$; $N = 35$; $p < 0,001$). Tendo em conta este resultado, apenas os dados respeitantes ao número de organismos capturados foram considerados nas análises subsequentes.

A análise gráfica dos dados (fig. 2.4. e fig. 2.5.) mostra que algumas espécies têm uma distribuição alargada ao longo do estuário, enquanto outras têm uma distribuição mais localizada. É possível verificar que a amêijoja-japonesa, *Ruditapes philippinarum*, está presente, tanto no Canal de Alcácer, como no Esteiro da Marateca, não ocorrendo em locais mais próximos da foz; *S. plana* (lambujinha) é bastante abundante na zona intermédia do Canal de Alcácer; e *C. glaucum* (berbigão) está presente no Canal de Alcácer e no Esteiro da Marateca, predominando no segundo local face a outras espécies. A montante, perto de Alcácer do Sal, ocorre *Corbicula fluminea* (ameijoja-asiática), sem outras espécies de bivalves acompanhantes. Perto da foz, existe maior diversidade da comunidade, com presença representativa de *Venus verrucosa* (pé-de-burro), *Spisula subtruncata* (ameijoja-dourada), *Ensis ensis* (longueirão) e *Solen marginatus* (longueirão). Registam-se, ainda, pequenos focos de *Abra alba*, *Macoma cumana*, *Mytilus edulis* (mexilhão) e *Ruditapes decussatus* (ameijoja-boia) ao longo do estuário, mas com representatividade reduzida.

A ostra-anã, *O. stentina*, ocorre em maior abundância na zona terminal do Canal de Alcácer (zona da Carrasqueira) e em menor abundância no Esteiro da Marateca (fig. 2.4. e fig. 2.5.). Quanto à espécie alvo deste estudo, *C. angulata*, esta ocorre em maior abundância no Canal de Alcácer, não havendo registos da espécie em zonas próximas da foz do estuário (fig. 2.4. e fig. 2.5.).

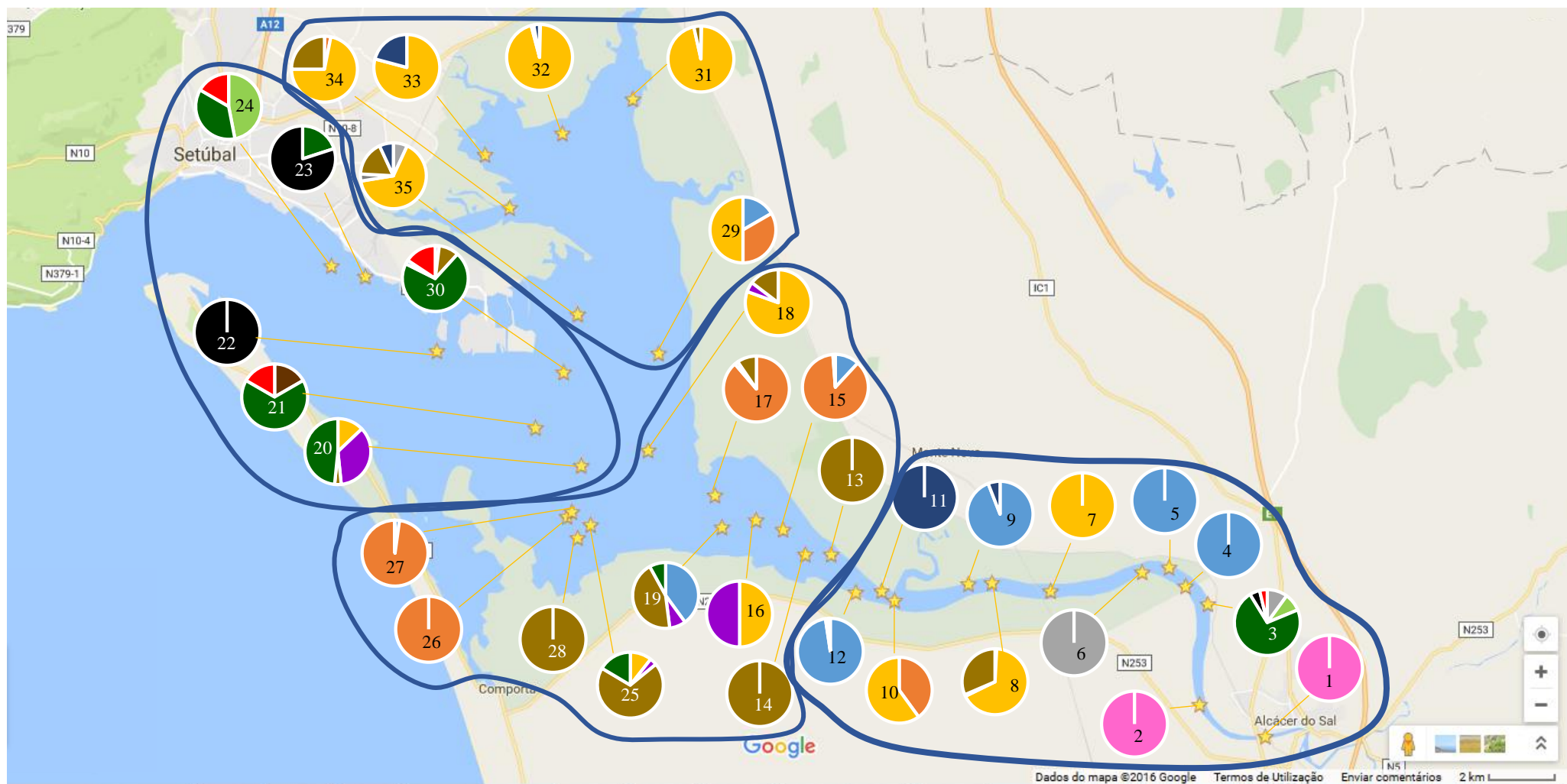


Figura 2.4. Mapa do estuário do Sado com a posição (estrelas) das estações de amostragem estudadas de 2 a 4 de julho de 2015. Cada estação de amostragem tem a si associado um gráfico circular onde se podem observar as espécies mais abundantes. As espécies representadas acima são: *Crassostrea angulata* (azul claro), *Ostrea stentina* (laranja), *Abra alba* (cinzento), *Cerastoderma glaucum* (amarelo), *Corbicula fluminea* (rosa), *Ensis ensis* (verde claro), *Macoma cumana* (roxo), *Mytilus edulis* (castanho escuro), *Ruditapes decussatus* (cinzento escuro), *Ruditapes philippinarum* (castanho claro), *Scrobicularia plana* (azul escuro), *Solen marginatus* (verde esuro), *Spisula subtruncata* (preto) e *Venus verrucosa* (vermelho). A zona do Esteiro da Marateca engloba os seguintes pontos de amostragem: 29, 31, 32, 33, 34 e 35. A zona da Baía Central está representada pelos pontos: 20, 21, 22, 23, 24 e 30. A zona do Canal Inferior inclui os seguintes pontos amostrais: 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 25, 26, 27 e 28. A zona do Canal Superior engloba os seguintes pontos de amostragem: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 e 12.

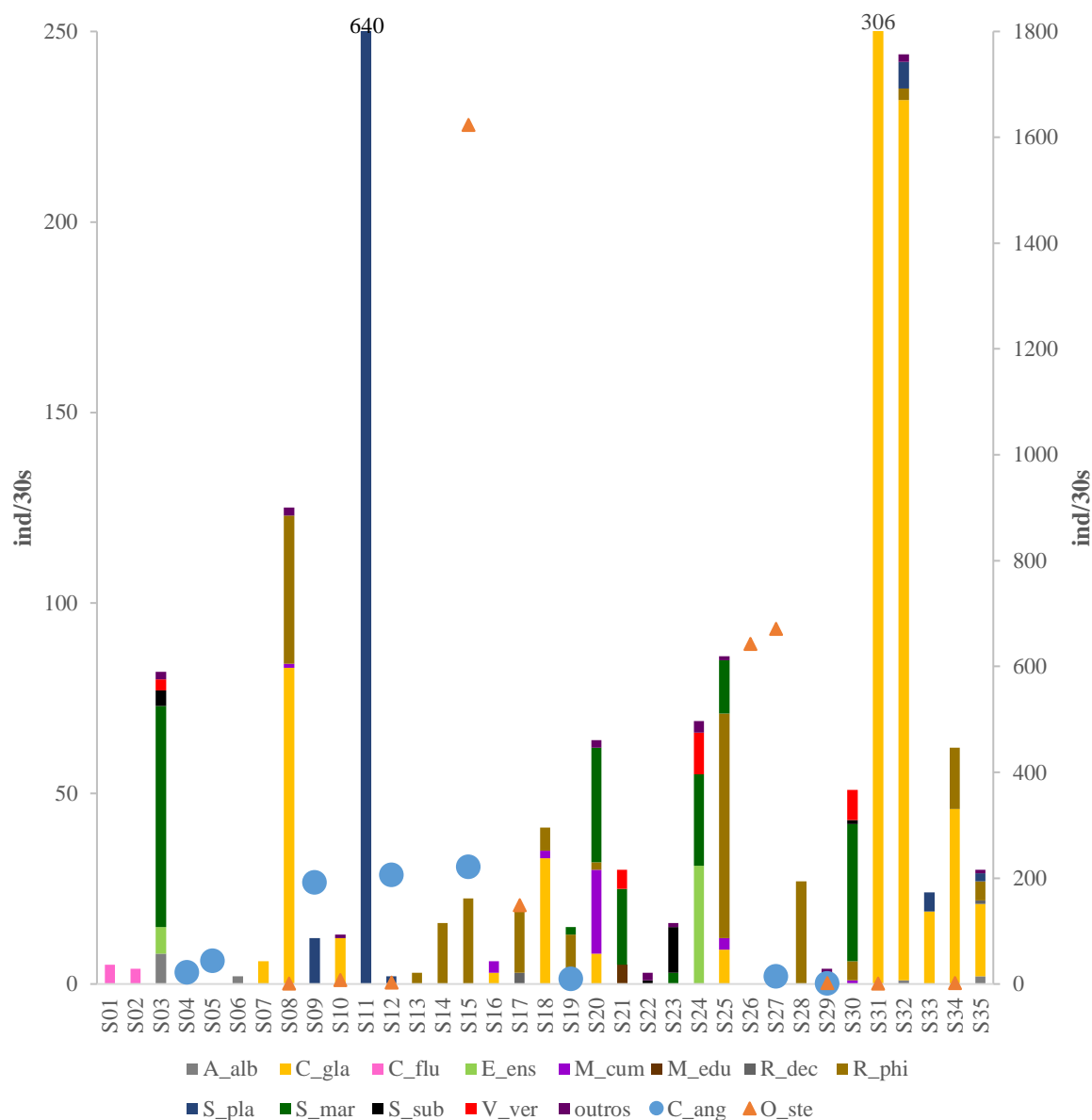


Figura 2.5. Composição específica de bivalves, por estação de amostragem (arrasto), no estuário do Sado. As espécies representadas acima são: *Crassostrea angulata* (C_ang: círculo azul claro), *Ostrea stentina* (O_ste: triângulo laranja), *Abra alba* (A_alb: cinzento), *Cerastoderma glaucum* (C_gla: amarelo), *Corbicula fluminea* (C_flu: rosa), *Ensis ensis* (E_ens: verde claro), *Macoma cumana* (M_cum: roxo), *Mytilus edulis* (M_edu: castanho escuro), *Ruditapes decussatus* (R_dec: cinzento escuro), *Ruditapes philippinarum* (R_phi: castanho claro), *Scrobicularia plana* (S_pla: azul escuro), *Solen marginatus* (S_mar: verde escuro), *Spisula subtruncata* (S_sub: preto) e *Venus verrucosa* (V_ver: vermelho). Na categoria «outros» (violeta) estão as espécies de bivalves com menos que 4 indivíduos. (correspondiam a menos de 0,07 % da amostra total) – as espécies são: *Abra nitida* (0,034 %), *Arcopagia crassa* (0,017 %), *Chamelia gallina* (0,017 %), *Gari fervensis* (0,017 %), *Gibbomodiolus adriatica* (0,068 %), *Modiolus modiolus* (0,017 %), *Musculus discors* (0,017 %), *Parvicardium pinnulatum* (0,034 %), *Politiitapes rhomboides* (0,017 %), *Ruditapes sp.* (0,017 %), *Spisula solida* (0,034 %), *Venerupis senegalensis* (0,051 %). O número de indivíduos das espécies de ostra (*Crassostrea angulata*, C_ang (círculo azul) e *Ostrea stentina*, O_ste (triângulo laranja)) referem-se ao eixo do lado direito do gráfico. As barras das estações 11 e 31 foram interrompidas para que fosse possível visualizar as restantes, o valor da contagem da espécie que foi interrompida está na extremidade superior da barra.

Os dados referentes à comunidade de bivalves foram ordenados pelo método MDS (Multi Dimensional Scaling), que permite avaliar a semelhança das amostras em composição/abundância. Inicialmente foram utilizadas na análise todas as estações de amostragem, mas as estações 1 e 2, por terem composição muito distinta das restantes (apresentam fundamentalmente *Corbicula fluminea*, espécie que apenas ocorre nestas estações), não permitiam uma ordenação perceptível dos padrões espaciais das

restantes, pelo que foram retiradas da análise exibida na figura 2.6. A representação final foi considerada boa por ter um valor baixo de *stress* a duas dimensões (2D *stress*: 0,1).

A ordenação MDS permitiu identificar quatro zonas no estuário com comunidades de bivalves distintas: “Canal superior”, “Canal Inferior”, “Marateca” e “Baía Central”. O teste PERMANOVA revelou que existiam diferenças significativas entre as zonas definidas e os correspondentes testes *a posteriori* evidenciaram a existência de diferenças significativas entre todas elas (tab. 2.1.).

As diferenças existentes prendem-se com a importância relativa dos quantitativos das espécies encontradas em cada zona. A maioria dos indivíduos das espécies *Abra alba*, *Crassostrea angulata* e *Scrobicularia plana* foram recolhidos nos arrastos realizados no Canal Superior. No Canal Inferior predominou *Ostrea stentina*, face às restantes zonas, e foi onde se destacou a presença de *Ruditapes decussatus*. No Esteiro da Marateca, a espécie *Cerastoderma glaucum* foi registada em maior abundância do que em outros locais do estuário. Por fim, na Baía Central destacou-se a inexistência de ostras e a presença marcada de *Venus verrucosa* e *Solen marginatus*.

Tabela 2.1. Testes pareados complementares ao teste PERMANOVA (pseudo-F=3,8248; P(perm)= 0,001) realizado para averiguar se a estrutura das comunidades de bivalves do estuário do Sado variou em função da zona do sistema.

PAIR-WISE TESTS	t	P(perm)
Canal Superior, Canal Inferior	1,7358	0,003
Canal Superior, Baía Central	1,8101	0,004
Canal Superior, Esteiro da Marateca	1,5914	0,035
Canal Inferior, Baía Central	2,2478	0,001
Canal Inferior, Esteiro da Marateca	2,0023	0,007
Baía Central, Esteiro da Marateca	2,7658	0,004

2.3.2. Influência dos fatores ambientais na estrutura da comunidade de bivalves

Com o objetivo de avaliar os fatores ambientais que podem caracterizar as diferentes zonas do estuário identificadas e influenciar as características das comunidades de bivalves em análise, sobrepueram-se os vetores (correlação de Spearman) de temperatura, de distância à foz, de matéria orgânica total e de classes de granulometria do sedimento à ordenação MDS previamente obtida.

Verifica-se que as estações de amostragem localizadas no canto inferior esquerdo do diagrama, correspondente à zona da Baía Central, estão associadas a granulometrias do sedimento intermédias (Areia grossa, Areia média e Areia fina), enquanto no Canal Inferior (parte inferior do gráfico) predominam estações com sedimento mais grosseiro (> 2,000 mm - Cascalho). As amostras do Canal Superior (lado direito do gráfico) e as da zona do Esteiro da Marateca (ao centro) estão associadas a valores mais altos de temperatura, maior distância à foz e maior predominância de vasa (< 0,063 mm) e de teores em matéria orgânica (MOT) no sedimento (fig 2.6.), características frequentemente mais marcadas no Canal Superior.

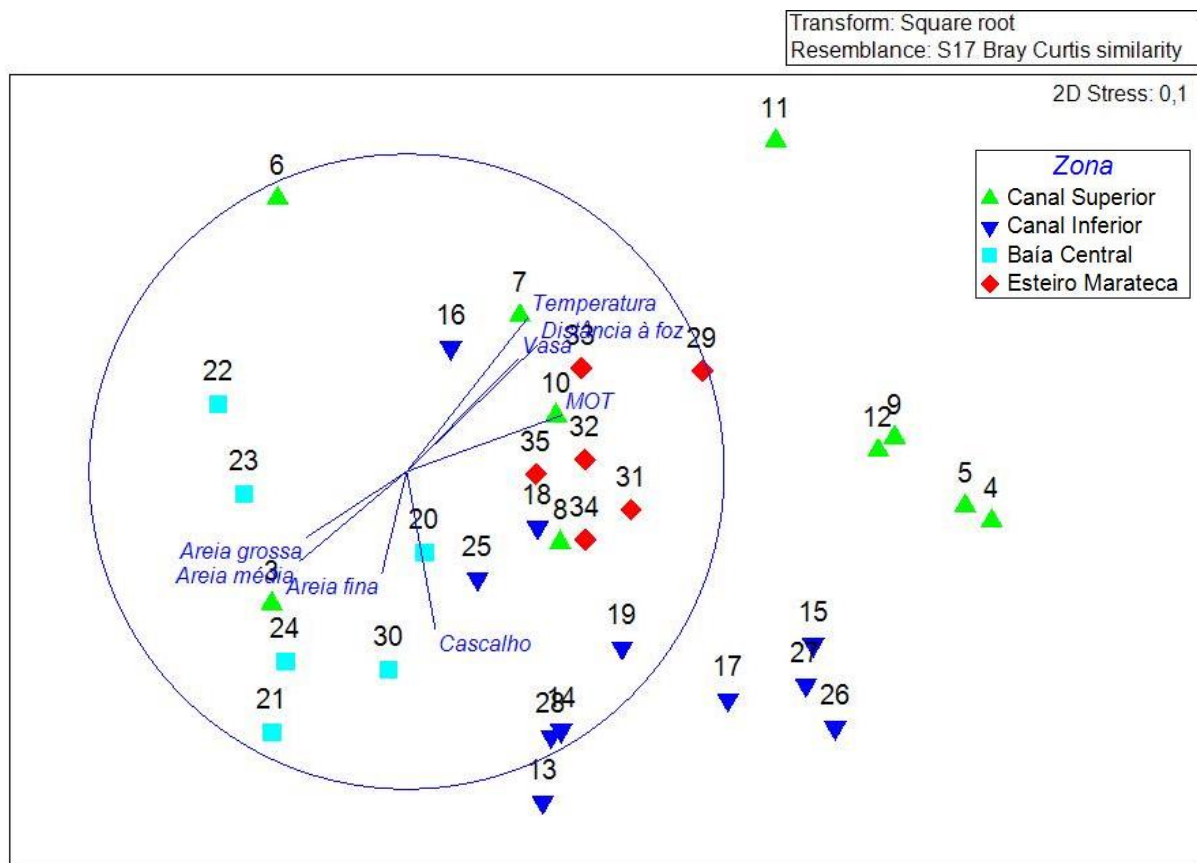


Figura 2.6. Sobreposição de fatores ambientais à ordenação MDS realizada para os dados de abundância da comunidade de bivalves do estuário do Sado (2D Stress: 0,1). Os números presentes no gráfico correspondem às estações de amostragem. Os símbolos correspondem às zonas do estuário: Canal Superior (triângulo verde), Canal Inferior (triângulo azul), Esteiro da Marateca (losango vermelho) e Baía Central (quadrado azul). Os dados ambientais incluem temperatura (Temperatura), distância de cada estação à foz (Distância à foz), teor em matéria orgânica total (MOT) e as classes de granulometrias (Cascalho, Areia grossa, Areia média, Areia fina e Vasa). Os vetores resultam de correlações de Spearman entre as variáveis ambientais e os dados de abundância das espécies de bivalves das estações de amostragem. A zona do Esteiro da Marateca engloba as seguintes estações de amostragem: 29, 31, 32, 33, 34 e 35. A zona da Baía Central está representada pelas estações: 20, 21, 22, 23, 24 e 30. A zona do Canal Inferior inclui as seguintes estações amostrais: 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 25, 26, 27 e 28. A zona do Canal Superior engloba as seguintes estações de amostragem: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 e 12.

2.3.3. Amplitude e sobreposição de nicho ecológico

O índice de diversidade de *Shannon-Wiener* traduz a amplitude de nicho das diversas espécies identificadas. O maior valor de amplitude de nicho ecológico calculado ocorreu para a espécie *R. philippinarum* (2,34), seguida por *S. marginatus* (1,79) e *C. glaucum* (1,69), e o menor foi o da espécie *M. edulis* (0,00). Quanto à espécie em estudo, *C. angulata*, esta exibiu uma amplitude de nicho ecológico relativamente elevada, maior (1,51) que a obtida para *O. stentina* (1,18) (tab. 2.2.).

Tabela 2.2. Amplitude de Nicho Ecológico – índice de *Shannon-Wiener* para as principais espécies de bivalves do estuário do Sado. As espécies com valores mais altos são as espécies mais generalistas na ocupação do sistema.

Espécies	Amplitude de Nicho
<i>Crassostrea angulata</i>	1,51
<i>Ostrea stentina</i>	1,18
<i>Abra alba</i>	1,07
<i>Cerastoderma glaucum</i>	1,69
<i>Corbicula fluminea</i>	0,69
<i>Ensis ensis</i>	0,48
<i>Macoma cumana</i>	1,25
<i>Mytilus edulis</i>	0,00
<i>Ruditapes decussatus</i>	0,56
<i>Ruditapes philippinarum</i>	2,34
<i>Scrobicularia plana</i>	0,23
<i>Solen marginatus</i>	1,79
<i>Spisula subtruncata</i>	0,93
<i>Venus verrucosa</i>	1,28

Para avaliar a potencial competição por nichos ecológicos entre as diversas espécies de bivalves, calculou-se a sobreposição de nicho entre elas, utilizando o índice de *Horn*. Na comunidade de bivalves analisada, as sobreposições de nicho mais elevadas verificaram-se entre *V. verrucosa* e *S. marginatus* (0,76) e entre *V. verrucosa* e *E. ensis* (0,70). As espécies *O. stentina* (0,45) e *R. philippinarum* (0,19) são as que ocupam nichos ecológicos mais próximos dos da espécie em estudo (*C. angulata*), não sendo, contudo, consideradas sobreposições ecologicamente significativas (tab. 2.3.), por esses valores serem inferiores a 0,60.

Tabela 2.3. Sobreposição de nicho – índice de *Horn* entre as principais espécies de bivalves do estuário do Sado. Considera-se sobreposição de nicho ecologicamente significativa quando o valor é igual ou maior que 0,6. Os valores obtidos são referentes a cada par de espécies e quando mais altos, maior é o potencial competitivo dentro do par. Os nomes científicos das espécies estão apresentados de forma abreviada: C_ang - *Crassostrea angulata*; O_ste - *Ostrea stentina*; A_alb - *Abra alba*; C_gla - *Cerastoderma glaucum*; C_flu - *Corbicula fluminea*; E_ens - *Ensis ensis*; M_cum - *Macoma cumana*; M_edu - *Mytilus edulis*; R_dec - *Ruditapes decussatus*; R_phi - *Ruditapes philippinarum*; S_pla - *Scrobicularia plana*; S_mar - *Solen marginatus*; S_sub - *Spisula subtruncata*; V_ver - *Venus verrucosa*.

	C_ang	O_ste	A_alb	C_gla	C_flu	E_ens	M_cum	M_edu	R_dec	R_phi	S_pla	S_mar	S_sub	V_ver
C_ang														
O_ste	0,45													
A_alb	0,00	0,00												
C_gla	0,00	0,01	0,19											
C_flu	0,00	0,00	0,00	0,00										
E_ens	0,00	0,00	0,31	0,00	0,00									
M_cum	0,03	0,00	0,00	0,18	0,00	0,00								
M_edu	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00							
R_dec	0,05	0,36	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00						
R_phi	0,19	0,26	0,07	0,43	0,00	0,00	0,34	0,00	0,18					
S_pla	0,06	0,00	0,03	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02				
S_mar	0,01	0,00	0,43	0,05	0,00	0,51	0,46	0,25	0,00	0,22	0,00			
S_sub	0,00	0,00	0,35	0,00	0,00	0,20	0,04	0,00	0,00	0,03	0,00	0,41		
V_ver	0,00	0,00	0,22	0,00	0,00	0,70	0,07	0,37	0,00	0,06	0,00	0,76	0,26	

2.3.4. Distribuição de ostras

Após a análise da comunidade de bivalves do estuário do Sado através da ordenação MDS, estudou-se em mais detalhe a distribuição subtidal de *C. angulata* e *O. stentina*. O diagrama da figura 2.7. revela que a ocorrência de *C. angulata* se restringiu às amostras agrupadas à direita do mesmo, zona referente ao Canal de Alcácer, com maiores abundâncias mais a montante (Canal Superior). Paralelamente, na figura 2.8., observa-se que *O. stentina* tem uma distribuição mais alargada no estuário. Ocorreu em maior número na zona terminal do Canal de Alcácer, definida como Canal Inferior (canto inferior direito do diagrama), e com menores abundâncias na zona do Esteiro da Marateca, zona central da ordenação MDS.

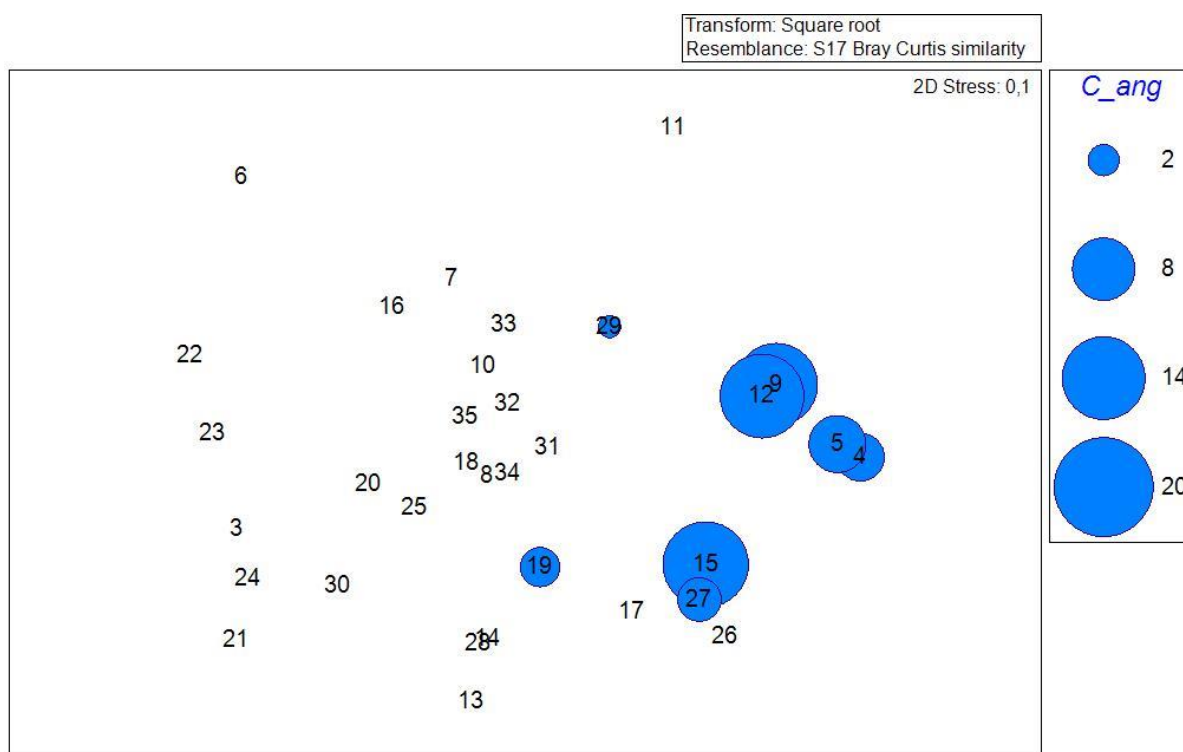


Figura 2.7. Sobreposição de abundâncias de *C. angulata* à ordenação MDS para a comunidade de bivalves do estuário do Sado (2D Stress: 0,1). Os números presentes no gráfico correspondem aos das estações de amostragem e o tamanho dos círculos corresponde aos valores de abundâncias desta espécie transformados pela raiz quadrada e apresentados à direita do gráfico.

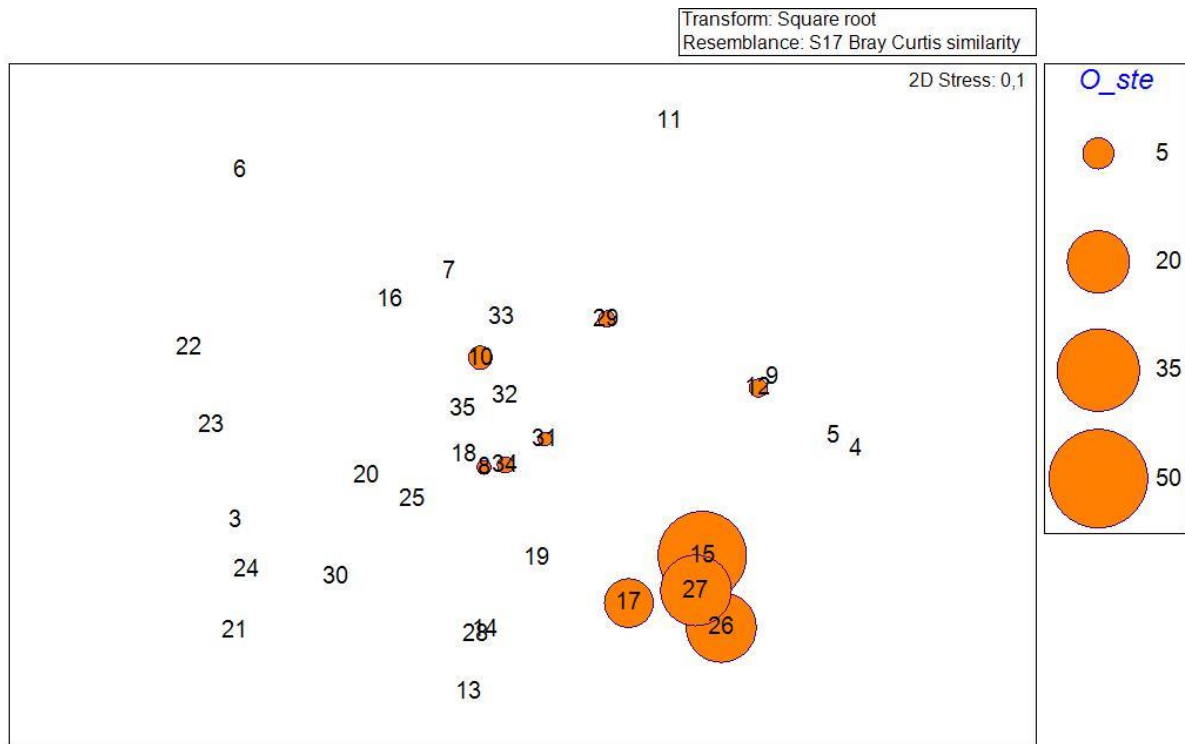


Figura 2.8. Sobreposição de abundâncias de *O. stentina* à ordenação MDS para a comunidade de bivalves do estuário do Sado (2D Stress: 0,1). Os números presentes no gráfico correspondem aos das estações de amostragem e o tamanho dos círculos corresponde aos valores das abundâncias desta espécie transformados pela raiz quadrada e apresentados na legenda do lado direito do gráfico.

Distribuição intertidal e subtidal de C. angulata e O. stentina

O mapa da figura 2.9. resume as abundâncias subtidais de *C. angulata* e *O. stentina* obtidas através da amostragem com ganchorra (N=35) e as ocorrências de bancos ostreícolas intertidais (amostragem visual qualitativa que ficou incompleta no Esteiro da Marateca).

O Canal de Alcácer, desde a área da ponte ferroviária até à zona de confluência com a Baía Central do estuário, apresenta uma distribuição irregular de bancos ostreícolas que, no geral, apresentam elevada densidade de indivíduos vivos e com indícios de recrutamento recente. Com a amostragem com ganchorra verificou-se que estes mesmos bancos se estendiam para o subtidal, predominando *C. angulata* na zona mais a montante e *O. stentina* na zona de confluência com a Baía Central.

Um pouco mais a jusante no estuário, nomeadamente nos Esteiros da Marateca e da Carrasqueira, foram identificados bancos com pouca densidade de ostras vivas, mas com algum recrutamento e extensão confirmada para o subtidal.

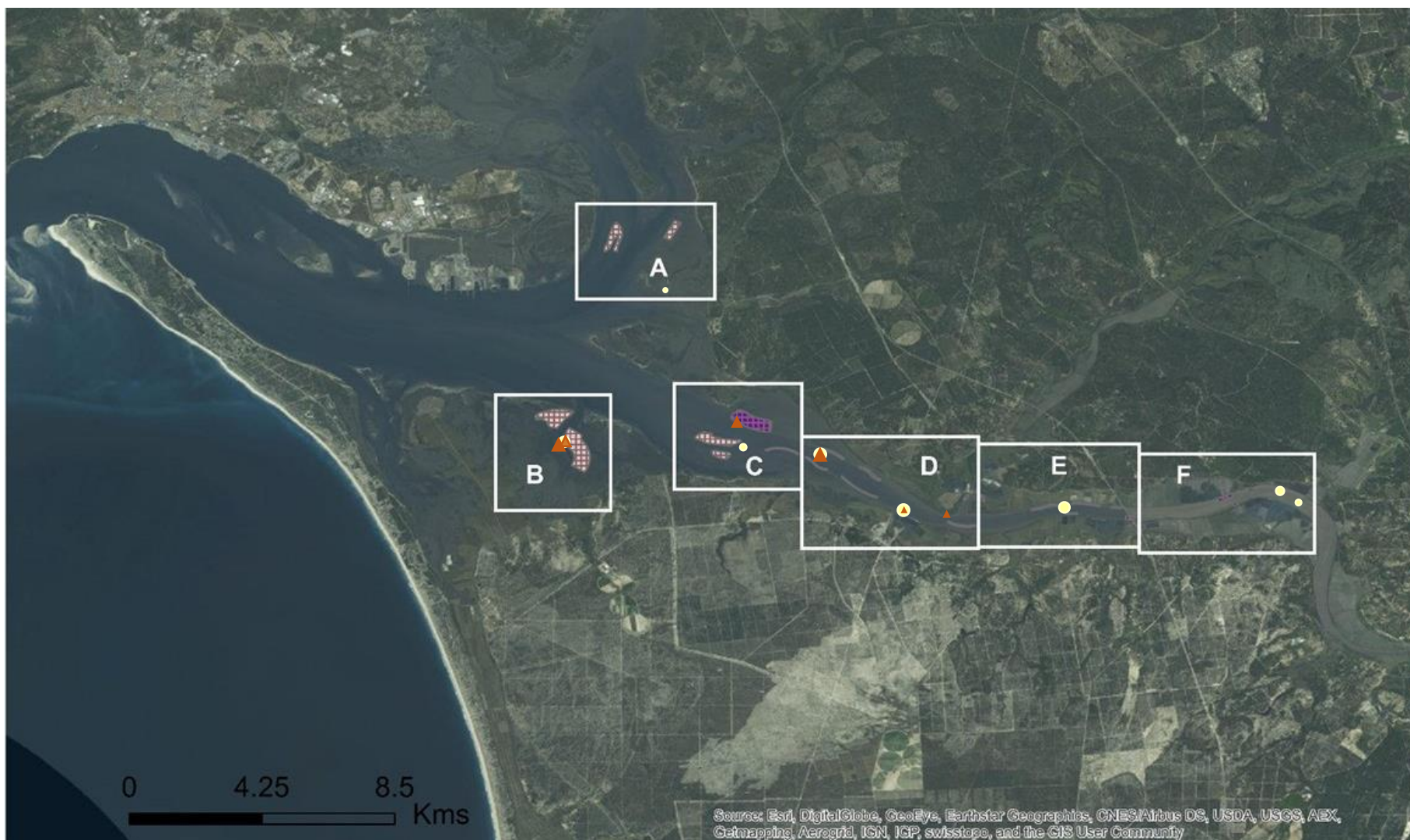
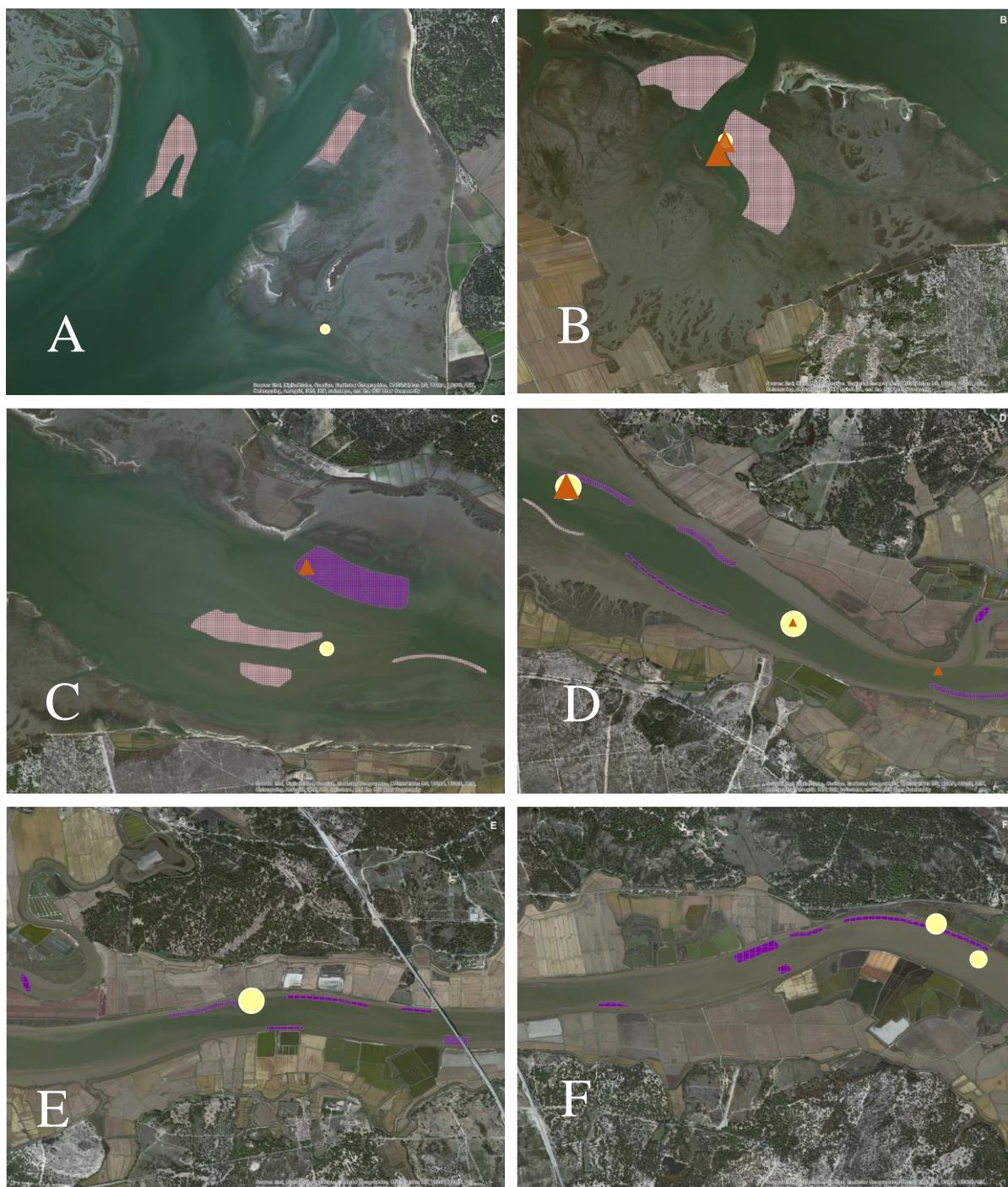


Figura 2.9. Distribuição intertidal e subtidal de *C. angulata* e *O. stentina*. Pontos a amarelo correspondem a capturas subtidais de *C. angulata* e o tamanho é proporcional à sua abundância. Triângulos a laranja correspondem a capturas subtidais de *O. stentina* e o tamanho é proporcional à sua abundância. Manchas a roxo correspondem a bancos intertidais com elevada densidade populacional (número elevado de ostras vivas). Manchas a cor-de-rosa correspondem a bancos intertidais com menor densidade populacional (número reduzido de ostras vivas). Quadriculas mais pequenas e próximas entre si indicam bancos contínuos e quadriculas maiores indicam bancos com afloramentos dispersos. As secções de A a F são ampliações ao mapa apresentado.

Figura 2.9. Continuação.



Distribuição subtidal de C. angulata em função de fatores ambientais

Com o objetivo de explicar a distribuição de *C. angulata* no estuário em função das variáveis ambientais recorreu-se a um modelo linear generalizado (GLM), considerando a abundância nas amostras subtidais e as seguintes variáveis ambientais com potencialidade para integrar o modelo: matéria orgânica, distância à foz e PHI.

O conteúdo em matéria orgânica presente nas amostras de sedimento foi baixo, não ultrapassando os 3,3%; a distância à foz das estações amostrais é uma medida indireta para a salinidade média ao longo de todo o ano e denotou um máximo de 41,4 km e um mínimo de 6,5 km; os valores calculados de PHI (medida média do tamanho do grão dos sedimentos) variaram entre 1,80 e 1,23, correspondendo os valores mais altos a amostras com maior percentagem de vasa e os mais baixos a amostras com maior percentagem de cascalho.

A seleção do melhor modelo explicativo da distribuição subtidal de ostra-portuguesa em função das variáveis ambientais baseou-se no critério AIC dos modelos gerados. O modelo B foi o escolhido por apresentar o valor mais reduzido para este critério (tab. 2.4.). O algoritmo que originou o presente modelo eliminou a variável Distância à foz (DistFozKm) e manteve os teores em matéria orgânica (MOT) e o tamanho médio do grão (PHI) dos sedimentos. O modelo explica, na sua totalidade, 44,12 % da variabilidade (tab. 2.4.) e identificou a matéria orgânica (MOT) como a variável que mais parece influenciar a distribuição de *C. angulata*. A tabela 2.5. resume as características das variáveis ambientais que compõem o modelo. Perante a modelação efetuada, observa-se que a abundância de ostra-portuguesa no subtidal é tanto mais elevada quanto maior for a matéria orgânica presente no sedimento, diminuindo quando o valor de PHI é mais alto (sedimento com mais vasa).

Tabela 2.4. Escolha do melhor modelo explicativo da distribuição subtidal de *C. angulata* em função de fatores ambientais. São apresentados os valores de AIC, as variáveis preditoras (fatores ambientais) e a percentagem de explicação total do modelo escolhido.

Modelo	AIC	Variáveis Preditoras	Explicação total (%)
<i>Modelo Nulo</i>	2963,71	-	
<i>Modelo A</i>	1708,65	MOT	
<i>Modelo B</i>	1679,74	MOT e PHI	44,12 %
<i>Modelo C</i>	1681,60	MOT, PHI e DistFozKm	

Tabela 2.5. Caracterização dos preditores (variáveis ambientais) que constituem o modelo selecionado para a explicação da distribuição subtidal de *C. angulata* no estuário do Sado. Para cada preditor são apresentados os valores do coeficiente de regressão, o desvio residual, o valor estatístico associado ao teste do χ^2 (*p-value*) e a percentagem de explicação.

Preditores	Coeficiente de regressão	Desvio residual	P-value	Explicação (%)
<i>MOT</i>	1,74	1661,9	< 0,001	43,06 %
<i>PHI</i>	-1,67	1631,0	< 0,001	1,06 %

2.4. Discussão

Um dos principais objetivos deste capítulo foi conhecer a distribuição de *Crassostrea angulata* no estuário do Sado. Para isso, realizou-se uma amostragem da comunidade de bivalves do subtidal e uma inspeção aos bancos ostreícolas do intertidal. A comunidade amostrada apresentou um leque variado de espécies de bivalves, incluindo espécies não indígenas referenciadas pelo projeto INSPECT em 2012, como *Corbicula fluminea* (ameijoia-asiática) e *Ruditapes philippinarum* (ameijoia-japonesa), também presentes em estudos anteriores no estuário do Sado e em estuários próximos, como o do Tejo (ambas) ou o do Mira (só a primeira) (Garaulet, 2011; Anónimo, 2012; Oliveira, 2012; Presado, 2012; Ramajal, 2012).

Os resultados mostraram que as diversas zonas do estuário do Sado são importantes na estrutura da comunidade de bivalves devido às suas características ambientais. As espécies de ostra aparecem predominantemente no Canal de Alcácer (Dias, 1994; Ruano, 1997), onde o substrato é constituído por vasa e cascalho, exibe elevados teores de matéria orgânica e onde as temperaturas são mais altas devido à reduzida profundidade da zona. Não foram registadas ostras nas estações da zona da Baía Central, provavelmente devido à forte influência marinha e às maiores profundidades. As espécies de ostra apresentam amplitudes de nicho mais baixas relativamente a outras espécies de bivalves que, devido ao seu carácter generalista, podem ser encontradas por quase todo o estuário do Sado (*e.g.* *R. philippinarum* com amplitude= 2,34 ou *Solen marginatus* com amplitude= 1,79).

Na restante comunidade de bivalves, destacam-se duas sobreposições de nicho relevantes: entre *Venus verrucosa* e *Ensis ensis* de 0,70 e entre *V. verrucosa* e *Solen marginatus* de 0,76, o que indica que estas espécies ocupam fundamentalmente os mesmos locais, provavelmente competindo por espaço. Estas espécies preferem locais arenosos e com alguma profundidade, características da Baía Central onde a maioria dos exemplares destas espécies de bivalves foram recolhidos (Silva *et al.*, 2008).

A eventual proliferação e dominância no estuário do Sado de espécies não indígenas, particularmente da ameijoia-japonesa, poderá vir a causar um desequilíbrio no sistema (como já se verificou no estuário do Tejo (Garaulet, 2011)), com efeitos a nível ecológico, ambiental e socioeconómico. No primeiro caso devido à potencial competição por substrato e alimento com as espécies nativas e nos restantes casos devido às implicações que poderá ter no que concerne a alterações nas atividades relacionadas com a exploração destes recursos. Não foram identificados exemplares de ostra-japonesa (*Crassostrea gigas*) nos bancos naturais, mas diversas ostreiculturas produzem esta espécie e estudos recentes apontam para uma partilha de distribuição geográfica na costa Atlântica do continente Europeu (Fabioux *et al.*, 2002; Departamento de Aquicultura – DGRM, 2016). É de notar que o cultivo de ostra implica importação de semente (maioritariamente de França) e esta prática poderá constituir um vetor adicional de introdução de espécies exóticas no meio, não só de bivalves, mas também de outros *taxa* ou mesmo de patologias (Departamento de Aquicultura - DGRM, 2016; Wasson *et al.*, 2001).

A ostra-portuguesa (*C. angulata*) não apresenta sobreposições de nicho ecológico relevantes, no entanto, os resultados evidenciam que, no futuro, poderão ocorrer sobreposições entre a espécie em estudo e a ameijoia-japonesa (*R. philippinarum*). Estudos realizados no estuário do Tejo demonstram que a proliferação de espécies invasoras interfere com a distribuição e abundância das espécies de moluscos bivalves nativos. Por exemplo, Garaulet (2011) identificou a influência negativa de *R. philippinarum* na distribuição de *Ruditapes decussatus* (ameijoia-japonesa e ameijoia-boia, respetivamente), onde a espécie exótica se tornou mais abundante relativamente à espécie nativa congénere (ameijoia-boia), podendo também afetar a distribuição de berbigão, *Cerastoderma glaucum*.

Quanto à distribuição de *C. angulata*, observou-se que o índice de amplitude de nicho é maior que a outra espécie de ostra identificada no estuário (*O. stentina*) ($1,51 > 1,18$), sendo esta última mais abundante nos locais que consegue colonizar. Estes resultados apontam para um carácter mais generalista da ostra-portuguesa face à ostra-anã.

Observou-se alguma expansão dos bancos de populações naturais de ostra-portuguesa no Canal de Alcácer relativamente a registos anteriores, no entanto, serão necessários mais estudos sobre esta temática para confirmar estas observações, pois com uma só amostragem não é possível ter um ponto de referência que permita quantificar essa expansão espacial. Como se confirmou na amostragem direccionada ao intertidal, a maioria dos bancos naturais está em bom estado de conservação e alguns afloramentos situam-se mais a montante do que o registado em estudos anteriores (Dias, 1994; Ruano, 1997; Anónimo, 2016). Esta abrangência espacial, superior à que era conhecida anteriormente para o intertidal, estende-se a áreas permanentemente imersas pouco profundas, como se confirmou na amostragem direccionada ao subtidal. Em termos microbiológicos, a zona do Canal de Alcácer tem classificação B para a apanha de bivalves (Despacho nº 4022/2015, de 22 de abril), contudo, devido aos elevados teores em Cádmiio, é uma zona interdita à apanha de ostra (Despacho nº 9179/2015, de 14 de agosto). Apesar desta proibição, verifica-se alguma transposição para instalações de aquacultura (IPMA, dados não publicados). Os bancos naturais situados mais a jusante encontram-se mais debilitados, contudo, os exemplares que os compõem apresentam crescimento e existe algum recrutamento. Ainda assim, a recuperação e a saúde dos bancos naturais podem estar condicionadas devido à falta de controlo na apanha de indivíduos adultos que constituem a população.

A distribuição de ostra depende de inúmeros fatores, por exemplo, do espaço, do substrato ou do alimento disponível na fase larvar e na fase bentónica (Ruano, 1997). O substrato de fixação pode variar entre vasa, areia vasosa, cascalho vasoso ou estruturas artificiais; características encontradas nas margens ou no fundo onde a velocidade de corrente é mais reduzida e favorável à sedimentação de pequenas partículas (sedimentos, matéria orgânica ou larvas) (Vilela, 1975; Freitas *et al.*, 2008). Com o intuito de perceber que fatores ambientais explicam a distribuição subtidal da espécie em estudo no estuário do Sado, estimou-se um modelo linear generalizado (GLM). O modelo desenvolvido tem uma explicação de aproximadamente 44 % e as duas variáveis que melhor explicam a variabilidade da abundância de ostra-portuguesa são a MOT e o PHI (teores de matéria orgânica presente no sedimento e o tamanho médio do grão desse sedimento, respetivamente), sendo a MOT a variável preditora com maior relevância. Locais com maior percentagem de matéria orgânica são locais com velocidades de corrente mais reduzidas, que potenciam a fixação de larvas e a sedimentação de partículas de matéria orgânica, levando à formação ou expansão de bancos naturais (Vilela, 1975). Os maiores valores de matéria orgânica poderão também contribuir para um aumento das disponibilidades alimentares, pois ao serem organismos filtradores não seletivos, poderão filtrar matéria orgânica ressuspensa na coluna de água. O facto da abundância de ostra-portuguesa diminuir com o aumento da percentagem de vasa nos sedimentos indica igualmente que esta espécie prefere substratos com uma granulometria mais acentuada. Como os sedimentos com maiores teores de matéria orgânica tendem a ser aqueles também com maior percentagem de elementos finos, possivelmente o substrato ideal para o estabelecimento de populações de ostra-portuguesa será particularmente pouco abundante, já que exige, simultaneamente, uma razoável percentagem de elementos sedimentares mais grosseiros (típicos de áreas com maior hidrodinamismo), e de matéria orgânica (típicos de áreas com menor hidrodinamismo ou com maiores cargas de matéria orgânica autóctone ou alóctone). O substrato principal à fixação têm sido as conchas dos conspecíficos que, ao estarem num local, passam a constituir o substrato adequado à fixação de novos indivíduos. É de realçar que os estuários são zonas de hidrodinamismo muito variável em função do caudal de cada estação, da ocorrência de eventos extremos de pluviosidade ou de grandes aportes de

água vindos de montante. Assim, a localização dos bancos pode sofrer alterações se as condições do meio se alterarem.

Em resumo, os bancos naturais localizados no Canal de Alcácer (banco Cachopos e banco Monte da Pedra) foram os que se apresentaram atualmente mais robustos e onde se observou assentamento recente, apesar de tradicionalmente não serem os bancos de maior qualidade, que costumavam ser os das zonas da Murta, Abúl, Carrasqueira, Rabo de Bacalhau ou Ilha do Cavalo (Vilela, 1975; Dias, 1994; Ruano e Dias, 1994; Ruano, 1997; Anónimo, 2016). Se a condição favorável dos bancos de ostra-portuguesa a montante do sistema parece constituir uma boa notícia para a revitalização das populações da espécie no estuário do Sado, a situação a jusante mantém-se preocupante, podendo potencialmente agravar-se caso se verifique a proliferação da ameijoja-japonesa nessa região.

Capítulo 3

Distribuição larvar e assentamento de ostra

3. Distribuição larvar e assentamento de ostra

3.1. Enquadramento

A ostra-portuguesa, *C. angulata*, é uma espécie dioica, com fecundação externa, na coluna de água, e que os sexos dos indivíduos são separados, embora estes possam potencialmente ser bissexuais. De facto, embora os indivíduos adultos possam alternar o sexo das suas gónadas várias vezes ao longo da sua vida, raramente são hermafroditas (Galtsoff, 1964; Vilela, 1975). A primeira postura pode ocorrer antes de completarem o primeiro ano de idade e dá-se quando a temperatura da água ultrapassa os 18 - 20 °C, ocorrendo de forma intermitente (*batches*), podendo ter alguns dias de intervalo (Vilela, 1975).

A fase larvar nas ostras passa por diversos estados. Após a fecundação (externa) na coluna de água, no género *Crassostrea*, inicia-se a multiplicação celular do ovo, de mórula passa a blástula, seguida pela gástrula. Quando o embrião começa a crescer e as células originam as estruturas para as quais estavam geneticamente destinadas, forma-se a primeira larva, a larva trocófora. Com o desenvolvimento da concha e do velum para auxílio da natação, a larva adquire o estado de larva velígera ou larva D (Vilela, 1975; Chícharo, 1996) (fig. 3.1.). As larvas, depois de eclodirem, alimentam-se de nanoplâncton e microalgas presentes na coluna de água, ingerindo partículas até 30 µm, aproximadamente (Galtsoff, 1964; Baldwin e Newell, 1995; Wallace *et al.*, 2008; Qiu *et al.*, 2015).

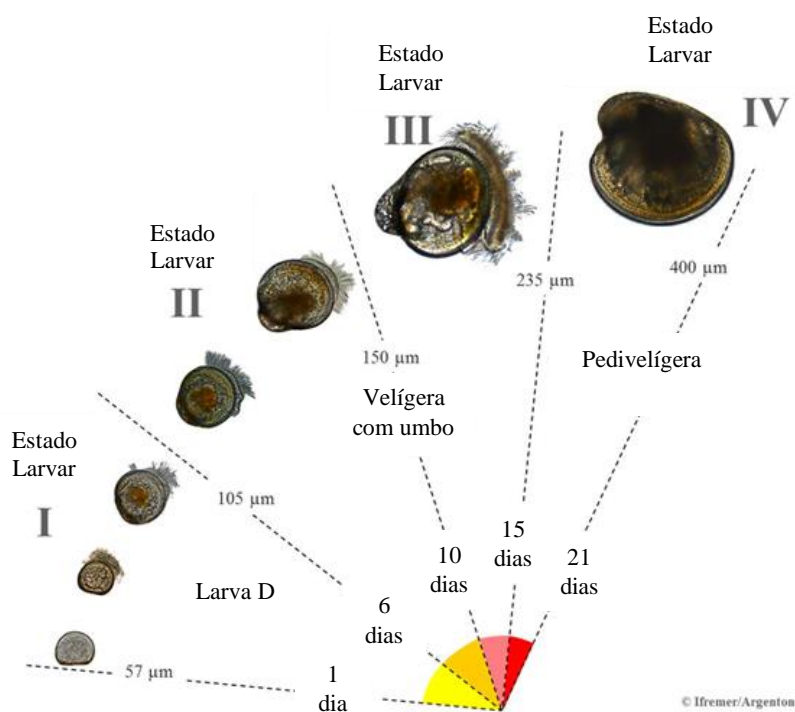


Figura 3.1. Estados larvares do género *Crassostrea*, com indicação dos tamanhos (µm) e duração de cada fase no plâncton (dias). Adaptado de IFREMER/Argenton.

A velocidade de natação das larvas varia de 0,0 mm/s a 9,5 mm/s, para larvas com tamanhos compreendidos entre 70 µm e 320 µm (valores aproximados) (Qiu *et al.*, 2015). Larvas velígeras em forma de “D”, por metamorfose, transformam-se em larvas pedivelígeras (Estado IV). Após este período, e dependendo da temperatura à qual se desenvolvem, assentam num substrato rígido, com ajuda

da glândula bissogénica, dando início à sua vida sésil (Vilela, 1975; Collet *et al.*, 1999; Thiagarajan e Ko, 2012). Em média, as larvas permanecem durante 15 a 25 dias no plâncton e a duração desta fase depende de fatores ambientais (por ex.: temperatura ou alimento) e do sucesso a encontrar substrato para fixação (Chícharo, 1996; Rico-Villa *et al.*, 2009; Bernard, 2011; Pouvreau *et al.*, 2015).

Os registos de recolhas de larvas no estuário do Sado remontam à década de 60 do século XX, associados à atividade ostreícola. Eram efetuadas junto a locais onde se concentravam as explorações, como Assoreira, Comporta, Carraca, Escamaferro, Casal do Pinheiro, Canal do Alcácer, Zambujal e Rosmaninho. Essas colheitas eram efetuadas com o intuito de avaliar o período de assentamento para captura de semente natural. Para os arrastos de plâncton (horizontais), junto à superfície e durante alguns minutos, eram usadas mangas de rede de 150 µm. Como se pode observar na figura 3.2., entre 1963 e 1966, as larvas de ostra estão presentes no plâncton, de maio a novembro (Vilela, 1975).

As larvas podem fixar-se a qualquer superfície dura, como conchas de ostras ou conchas de outros bivalves que estejam em ambiente natural, ou que estejam organizadas em palangres, sacos ou fiadas (rosários). Podem igualmente fixar-se a estruturas artificiais, como, por exemplo, coletores em material PVC, PVC coberto de cimento, telhas de cerâmica caídas, placas de ardósia, placas de plástico, cartões em gaiolas de rede, cartões porta-ovos fortificados com cimento, varões de ferro, tijolos, blocos de cimento, bambu, ramos de diversas árvores, granito ou betão (Vilela, 1954; 1975; Collet *et al.*, 1999; Manly *et al.*, 2008; Allen *et al.*, 2013). Para assentarem beneficiam das correntes mais fracas próximas do fundo (Vilela, 1975).

Após o assentamento, o velum e o pé da pós-larva assentada degeneram, e ocorre uma reorganização anatômica dos órgãos internos, bem como o início do funcionamento dos palpos labiais para a alimentação (Galtsoff, 1964; Chícharo, 1996). Antes de completarem um ano de idade, os juvenis podem estar sexualmente maduros e emitir gâmetas antes do verão (Vilela, 1975).

No âmbito das atividades ostreícolas, quando os juvenis têm entre 6 e 8 meses e uma altura entre 2 a 4 cm são retirados (individualmente) dos coletores e colocados em parques para crescimento. Este processo tradicional denomina-se destruncagem. As ostras cultivadas são mantidas em parques de crescimento até atingirem o tamanho legal mínimo de comercialização, estabelecido nos 5 cm de altura (Ruano, 1997). Nos últimos anos, devido às reduzidas populações de ostra-portuguesa, a semente cultivada é importada de maternidades, no entanto, a recolha de semente natural é importante para a manutenção do *pool* genético da espécie (Departamento de Aquicultura – DGRM, 2016; Anónimo, 2016).

Neste capítulo estudou-se a abundância e a distribuição temporal da fase larvar de *C. angulata* no estuário do Sado. Determinou-se o início e a duração do assentamento larvar em coletores em quatro locais e estudou-se a sua variação espacial e temporal. A fase larvar e o assentamento foram ainda relacionados com medições de fatores abióticos e bióticos (temperatura, salinidade, concentração de clorofila *a* e de fitoplâncton).

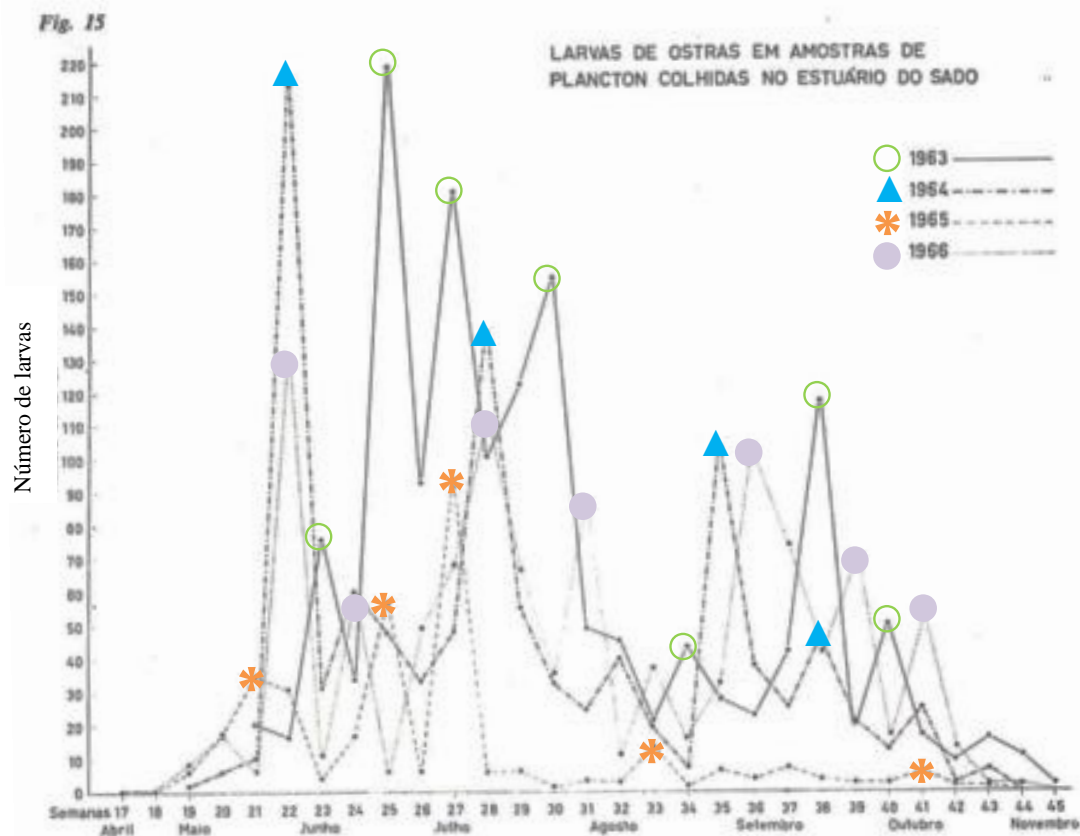


Figura 3.2. Contagem de larvas de ostras em amostras de plâncton colhidas no estuário do Sado nos anos 1963 a 1966. Gráfico retirado de Vilela (1975).

3.2. Metodologias

3.2.1. Amostragem

Nas campanhas para obtenção dos dados, foi utilizada uma embarcação da Reserva Natural do Estuário do Sado (RNES/ICNF), quer para a amostragem de plâncton, quer na deslocação para os locais onde foram realizadas as experiências de assentamento. Em cada estação de amostragem de plâncton foram recolhidas amostras de água (clorofila *a* e fitoplâncton) e de zooplâncton e mediu-se a temperatura da água. Estas recolhas foram efetuadas sempre durante a mesma fase de maré (enchente) e a trabalhar de montante para jusante.

Variáveis abióticas e bióticas

Temperatura e salinidade

Para registar temperatura e salinidade da água foi efetuada monitorização contínua destes parâmetros, na coluna de água, através de sensores fundeados no estuário do Sado. Colocaram-se dois sensores de auto-registo com periodicidade de 10 em 10 minutos. O primeiro foi instalado num dos pilares da ponte ferroviária sobre o Canal de Alcácer, junto ao banco ostréicola Batalha (montante) e relativamente perto do banco Monte da Pedra (mais a jusante), em março de 2015, sendo retirado em março de 2016. O segundo sensor foi instalado numa boia de navegação localizada perto do terminal naval da Mitrena (jusante) em finais de agosto de 2015 e retirado em março de 2016. Os sensores foram periodicamente visitados para limpeza da amarração e para descarregar os dados gravados. Esta monitorização foi importante para comparação com os dados sobre distribuição e assentamento larvar (*e.g.* temperaturas e salinidades a que aparecem larvas na coluna de água ou o momento em que estas desaparecem).

Simultaneamente com as colheitas regulares de plâncton, através de uma sonda multiparamétrica YSI, foi registada a temperatura da água em cada estação.

Os registos de temperatura do ar foram obtidos na estação meteorológica de Alcácer do Sal – IPMA para posterior comparação com os valores obtidos perto dos bancos naturais de ostra.

Clorofila *a* e fitoplâncton

Em paralelo à amostragem de plâncton foram recolhidas, em cada estação, amostras de água, à superfície, para filtragem e quantificação da concentração de clorofila *a*. Estas foram mantidas refrigeradas e no escuro até à chegada ao laboratório.

Foram igualmente recolhidas amostras de água, à superfície nas estações amostrais, as quais foram preservadas em solução de formalina a 2 % para posterior identificação e quantificação dos principais grupos de fitoplâncton presentes no estuário do Sado com intuito de conhecer as partículas ingeridas pelas formas larvares.

Larvas de ostra e de outros bivalves no zooplâncton

Para a amostragem das fases larvares da ostra-portuguesa foram realizadas campanhas quinzenais e mensais, desde março de 2015 a fevereiro de 2016. A periodicidade foi quinzenal entre março e novembro de 2015 e mensal de dezembro de 2015 a fevereiro de 2016, passando a mensal devido à reduzida abundância de larvas de ostra na coluna de água nesse período. As recolhas foram efetuadas de acordo com uma grelha de pontos amostrais que se pretendeu que cobrisse toda a área do canal de Alcácer e a Baía Central, sendo dada mais atenção aos locais correspondentes aos bancos de ostra mais ativos. Em cada estação, e para os objetivos do projeto em que este trabalho esteve inserido, foram efetuados diversos arrastos com diferentes tipos de amostrador. Os arrastos foram realizados horizontalmente, a uma profundidade de 0,5 m, e foi medido o volume de água filtrado através de um fluxómetro, instalado na boca da rede. Para o presente trabalho reportam-se apenas os resultados dos arrastos com rede de malhagem 60 μm e referentes às estações 3 e 4 na zona terminal do Canal de Alcácer (fig. 3.3.).

As amostras, depois de recolhidas, foram imediatamente conservadas em solução de formol a 4 %, obtida com água do rio e neutralizada com acetato de sódio.

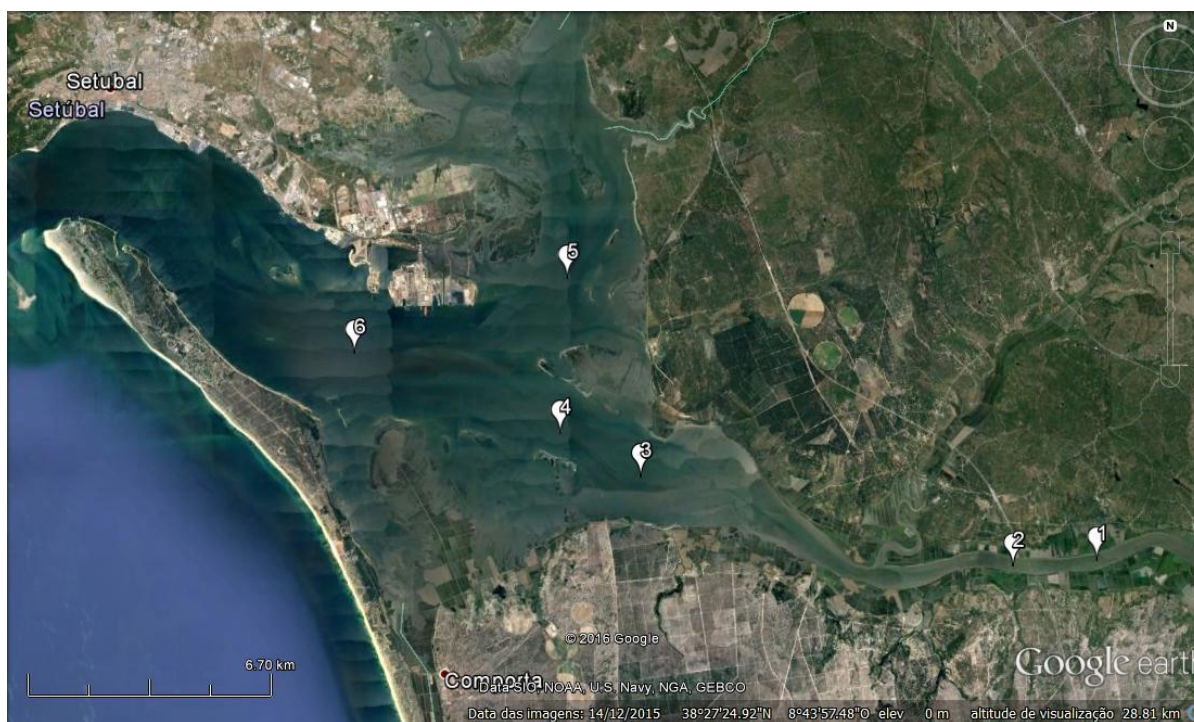


Figura 3.3. Distribuição das estações de amostragem de zooplâncton, clorofila *a* e fitoplâncton na área de estudo. Estão representadas todas as estações que fizeram parte do projeto CrassoSado em que este trabalho esteve inserido, contudo, apenas as estações 3 e 4, no final do Canal de Alcácer, foram analisadas neste documento.

Experiências de assentamento de ostras

Com o objetivo de analisar a taxa de assentamento larvar ao longo do tempo e do espaço, foram instalados coletores em 4 locais do Canal de Alcácer, na zona intertidal (fig. 3.4.). Os locais selecionados incluem três bancos de ostra em exploração, nomeadamente, Monte da Pedra, Batalha e Cachopos; e um local sem ostras e sem substrato natural para fixação larvar: Lodaçal.

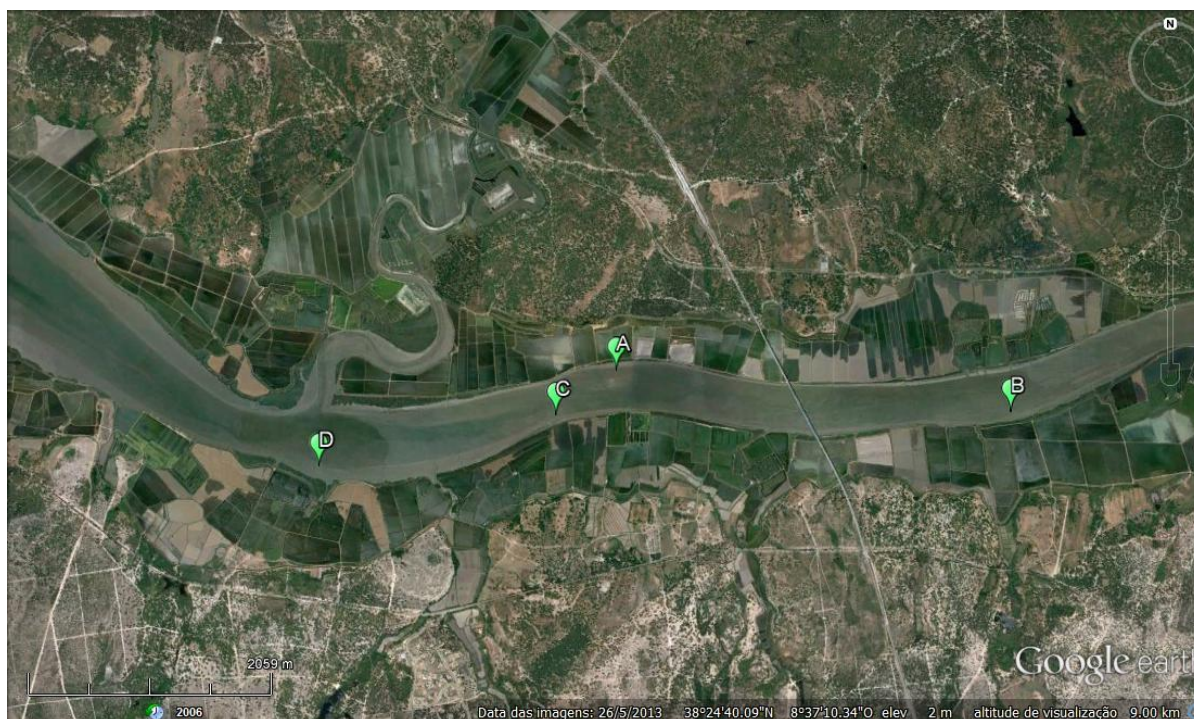


Figura 3.4. Distribuição dos locais selecionados para as experiências de assentamento realizadas no Canal de Alcácer. A: banco Monte da Pedra; B: banco Batalha; C: Lodaçal; D: banco Cachopos.

Em cada local foram colocados coletores de PVC (Vilela, 1954; Collet *et al.*, 1999; Manly *et al.*, 2008), em que cada um era constituído por seis meios tubos com 50 cm de comprimento e 17 cm de diâmetro (“telhas”); dispostos com a parte côncava para baixo, em três níveis (“andares”) e em que cada nível foi composto por dois meios tubos (fig. 3.5.). A posição de cada telha foi identificada relativamente à sua localização no coletor (nível superior, intermédio ou inferior). As faces das telhas foram designadas de externa e interna (parte de fora e parte de dentro do meio tubo, respetivamente). Os coletores foram instalados regularmente entre 20 de abril de 2015 e 24 de março de 2016. Na tabela 3.1. encontram-se resumidos os períodos de permanência dos coletores nos diversos locais, tanto os recuperados como os perdidos após a colocação no respetivo local.



Figura 3.5. Fotografia de um coletor num dos locais de amostragem. O coletor é composto por seis meios tubos (telhas) de PVC, de aproximadamente 50 cm, distribuídos em três andares: superior, intermédio e inferior. As faces das telhas foram designadas externa e interna (parte de fora e parte de dentro do tubo, respetivamente).

Tabela 3.1. Coletores colocados e retirados regularmente dos vários locais (Monte da Pedra, Batalha, Lodaçal e Cachopos) durante o período experimental. A data do lado esquerdo da barra de cada coletor corresponde à data em que este foi colocado no local de amostragem e a data do lado direito corresponde à data em que este foi retirado. Os coletores do mesmo local estão coloridos com a mesma cor, a verde o banco Monte da Pedra, a roxo o banco Batalha, a vermelho o Lodaçal e a amarelo o banco Cachopos. Os coletores assinalados com “x” e de cor cinzenta não foram recuperados. De 13 de janeiro a 24 de março de 2016 apenas o banco Batalha teve coletores operacionais.

20 abr	10 mai	20 mai	03 jun	15 jun	03 jul	15 jul	04 ago	15 ago	02 set	15 set	02 out	15 out	01 nov	12 nov	01 dez	15 dez	01 jan	13 jan	22 fev	24 mar
Mt. Pedra	Mt. Pedra					x				x					Mt. Pedra	Mt. Pedra				
						x				x										
			Mt. Pedra	Mt. Pedra				x			Mt. Pedra	Mt. Pedra								
								x												
Batalha	Batalha				Batalha					x					Batalha	Batalha				
						x				x										
				x				x			Batalha	Batalha						Batalha	Batalha	
			Batalha				x													
Lodaçal	Lodaçal				Lodaçal	Lodaçal			Lodaçal	Lodaçal					Lodaçal	Lodaçal				
				x				Lodaçal					x							
			Lodaçal					Lodaçal				Lodaçal								
Cachopos	Cachopos				Cachopos					x					Cachopos	Cachopos				
						x					Cachopos									
			Cachopos					Cachopos				Cachopos	Cachopos							
				x				Cachopos												

3.2.2. Trabalho Laboratorial

Variáveis bióticas

Clorofila *a* e fitoplâncton

A determinação da concentração de clorofila *a* constitui uma medida indireta da biomassa de fitoplâncton, sendo, por isso, importante para se perceber se existe alimento disponível às larvas da espécie em estudo.

As amostras de água recolhidas superficialmente em cada estação de plâncton foram filtradas logo após a chegada ao laboratório. Para a filtração foram usados, para cada amostra, 2 filtros de membrana de nitrato de celulose com porosidade de 0,45 µm e com diâmetro de 47 mm, imediatamente congelados e mantidos no escuro.

Para a determinação da concentração de clorofila *a* foi utilizado o método fluorimétrico (Yentsch e Menzel, 1963; Holm-Hansen *et al.*, 1965). Extraíu-se a clorofila *a* com 8 ml de acetona a 90%, durante 24 horas, e a solução resultante foi centrifugada a 3000 r.p.m., durante 10 minutos, antes da leitura no espectrofluorímetro, a 665 µm (HITACHI F-7000).

No que concerne ao fitoplâncton, apenas as amostras relativas ao período em que houve maior representatividade larvar foram analisadas: de março a dezembro de 2015. Devido à morosidade de todo o processo, optou-se por analisar mensalmente este parâmetro e apenas as amostras da estação 3.

A preparação das amostras para observação envolveu a homogeneização destas por agitação manual e posterior sedimentação do material em coluna de sedimentação (10 ml) durante um mínimo de 8 horas (Edler e Elbrächter, 2010).

Ao microscópio foram contabilizadas e medidas todas as células de fitoplâncton sedimentadas na coluna. Quando a contagem não atingiu um mínimo de 100 células, o processo foi repetido (agitação, sedimentação e contabilização ao microscópio) até perfazer esse número, podendo ultrapassá-lo pois eram vistas todas as células da nova coluna de sedimentação.

Larvas de ostra e de outros bivalves no zooplâncton

A abundância de larvas de bivalves e de ostras (indivíduos/m³) foi determinada através da análise das amostras recolhidas com a rede de zooplâncton com malhagem de 60 µm. Para cada amostra foi medido o volume biológico total e o volume de uma subamostra que tivesse no mínimo 300 larvas de bivalve. Para a obtenção da sub-amostra foi utilizado um fracionador de amostras tipo *Folsom* e para a identificação, contagem e medição das larvas foi utilizada uma lupa binocular (ampliação máxima: 90x) com sistema de imagem (Visilog 6.3, Noesis), que permitiu a medição dos indivíduos. Para a determinação taxonómica e identificação dos estados larvares foi usada uma escala adaptada da literatura, modificada a partir das observações efetuadas em larvas, preservadas, da coleção do IPMA, obtidas por fertilização em laboratório. Para isso, foi dada atenção a aspetos morfológicos e dimensionais (Pascual, 1971; Chícharo, 1996; Pouvreau *et al.*, 2015). Foram consideradas as seguintes linhas indicadoras para a separação dos estados larvares: (i) estado I, larva D - até 100 µm aproximadamente; (ii) estado II, larva velígera com umbo - de 100 µm a 140 µm; (iii) estado III, larva velígera com umbo - de 140 µm a 235 µm; (iv) estado IV, larva pedivelígera - de 235 µm a 400 µm. As medidas indicadas são obtidas na parte mais alongada, do bordo lateral posterior ao anterior, paralela ao umbo e ao bordo ventral (Chícharo, 1996).

Experiências de assentamento de ostras

Após a recolha dos coletores dos quatro locais de amostragem, em laboratório procedeu-se à contagem das ostras juvenis e à sua identificação até à espécie. Para a contagem foi usada uma grelha com seis quadrículas de 8 x 8 cm (fig. 3.6.) e para a identificação da espécie foi usada uma lupa binocular (ampliação máxima: 50x). Mais concretamente, na identificação foi usada a concha esquerda, apenas se usando a direita no caso de a superior (esquerda) estar danificada. As ostras para as quais não foi possível realizar a identificação (n. i.) foram distribuídas proporcionalmente pelas espécies presentes na telha em que assentaram. As ostras que se fixaram nas estruturas artificiais foram todas contadas, no entanto, nos coletores que apresentaram elevada densidade de fixação só foram identificadas 30 ostras por telha e extrapolado o valor de cada espécie conforme as proporções registadas.



Figura 3.6. Fotografia de uma telha com ostras e cracas assentadas e com sobreposição da grelha de auxílio à contagem. A grelha apresentava seis quadrículas de 8,0 x 8,0 cm.

3.2.3. Análise de dados

Experiência de assentamento de ostras

Assentamento: distribuição espacial

Para a análise da distribuição espacial do assentamento foram utilizados os dados obtidos desde abril de 2015 a março de 2016 nos quatro locais onde se colocaram coletores. Após transformação dos dados com raiz quadrada e elaboração de uma matriz de semelhanças com a distância euclidiana, testou-se com PERMANOVA (Anderson *et al.*, 2008) se o número de ostras fixas nos coletores diferia consoante o local em que estas foram recolhidas. O objetivo desta análise foi perceber se existem diferenças no número de ostras assentadas nos diversos locais, quer para os dados das duas espécies, quer para os dados de cada uma das espécies em separado.

Em todos os testes estatísticos em que se utilizou a PERMANOVA foi empregue o teste geral, em que os dados brutos são permutados (no máximo 999 vezes) para se obter o valor da probabilidade. O nível de significância considerado para todas as análises foi de 0,05.

Assentamento: distribuição temporal

Como o Lodaçal e o banco Cachopos eram os locais com maior continuidade de dados, para além da análise espacial do assentamento, optou-se por analisar temporalmente os dois locais. Neste caso elaborou-se uma PERMANOVA (Anderson *et al.*, 2008) a dois fatores: data e local; com o objetivo de se perceber se o assentamento é contínuo ao longo do tempo e que diferenças ocorreram entre estes dois locais em estudo.

Em todas as comparações efetuadas com recurso a PERMANOVA foi empregue o teste geral, em que os dados brutos são permutados para se obter o valor da probabilidade, sendo no máximo efetuadas 999 permutações. O nível de significância considerado para todas as análises foi de 0,05.

3.3. Resultados

3.3.1. Variáveis abióticas e bióticas

Distribuição temporal de temperatura e salinidade

Analisaram-se os dados de temperatura e salinidade recolhidos ao longo do período amostral com o objetivo de perceber o que influencia a distribuição larvar e o assentamento da espécie em estudo.

As medições contínuas permitiram caracterizar a evolução destas variáveis ao longo do período de estudo. Os registos da zona mais perto da foz, perto do terminal naval da Mitrena, não tiveram a mesma cobertura temporal porque o sensor só ficou disponível durante o verão de 2015. No entanto, o período em que os registos foram simultâneos permitiu verificar que a evolução temporal de salinidade e temperatura é distinta nos dois locais.

Mais a montante, em zona menos profunda e com mais influência terrestre, as temperaturas de verão são mais elevadas e as de inverno mais baixas. Nesta zona, junto aos bancos de ostras atualmente mais relevantes, os valores de temperatura na coluna de água revelaram um aumento desde março, com as temperaturas a ultrapassarem os 18 - 20 °C no início de abril. Este aumento perdurou até finais de julho de 2015, quando o parâmetro atingiu um máximo de, aproximadamente, 27 °C. Depois desse momento, observou-se um decréscimo da temperatura, baixando dos 18 °C em meados de novembro do mesmo ano (fig. 3.7.). No inverno, as temperaturas registadas variaram entre 12 °C e 15 °C, sendo observados em fevereiro de 2016 os valores mais baixos do período amostral (cerca de 12 °C) (fig. 3.7.). As salinidades nessa região (junto aos bancos) variaram entre 3 e 30 unidades de salinidade.

Mais perto da foz, com nítida influência oceânica, as salinidades variaram apenas entre 20 e 35 unidades de salinidade e as temperaturas tiveram um comportamento inverso ao encontrado na estação de montante (fig. 3.7.).

Quer num local, quer noutro, é notório o efeito das marés, com flutuações diárias de salinidade que atingiram 22 unidades entre a preia-mar e a baixa-mar. A temperatura também apresentou flutuações diárias de, aproximadamente, 2 °C no verão e de cerca de 0,5 °C no inverno.

O padrão anual é caracterizado por, em cada grande período de aumento ou diminuição da temperatura, existirem flutuações de pequena escala temporal (um, dois dias). A variação da temperatura da água esteve em estreita relação com as alterações da temperatura atmosférica, conforme registada na estação meteorológica de Alcácer do Sal. A relação e evolução da temperatura na água e na atmosfera pode observar-se na figura 3.8., onde se verifica uma resposta bastante rápida da água à temperatura do ar.

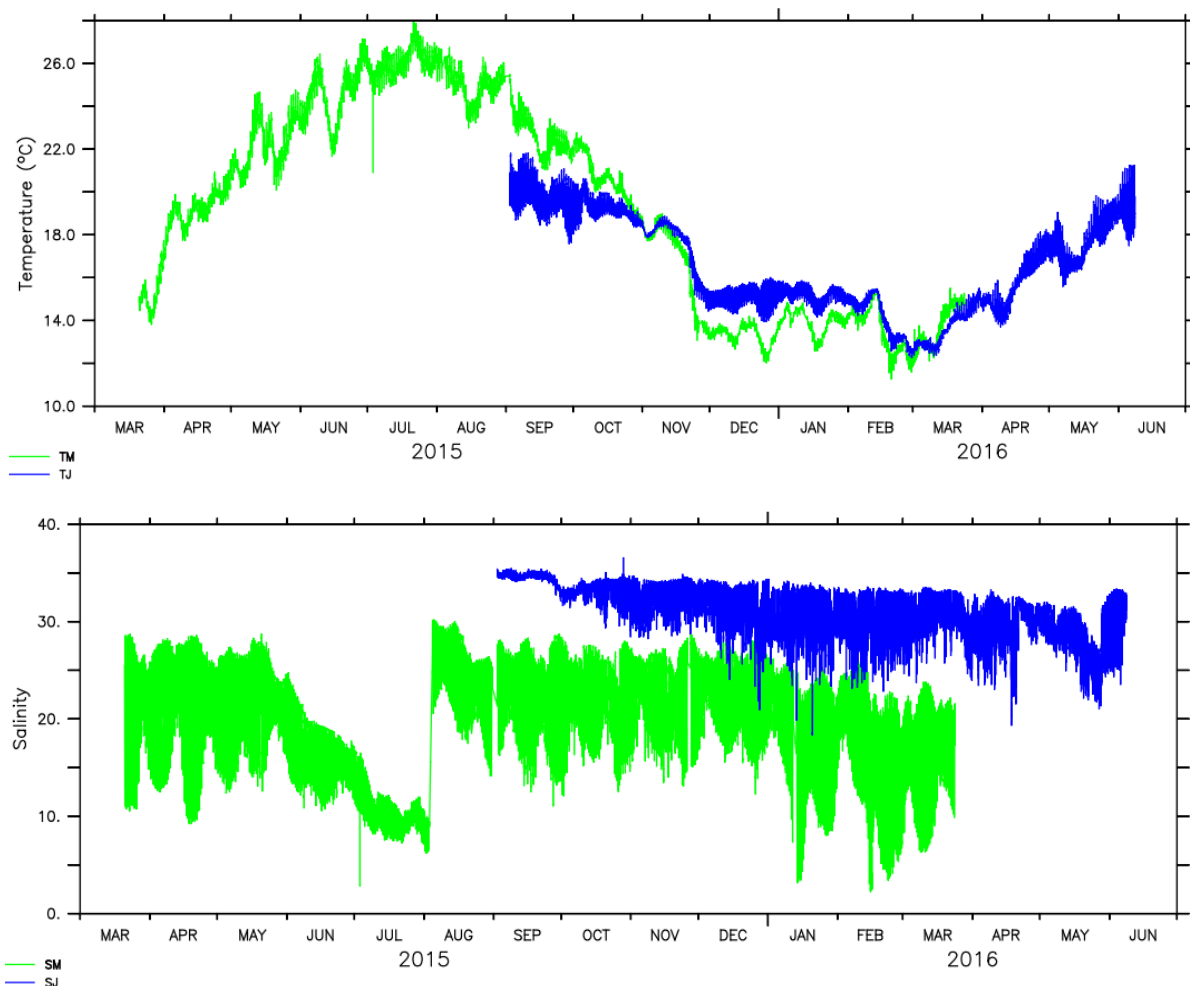


Figura 3.7. Temperatura (painel superior) e salinidade (painel inferior) registadas continuamente (a cada 10 min), com sensores CTD Star Oddi, no estuário do Sado. Um dos sensores esteve colocado junto à ponte ferroviária sobre o canal de Alcácer (a verde, SM: sensor montante) e o outro numa boia de sinalização de navegação perto do terminal naval da Mitrena (a azul, SJ: sensor jusante). No período compreendido entre o início de junho e o início de agosto de 2015 os dados são de baixa confiança, por o sensor ter apresentado anomalias.

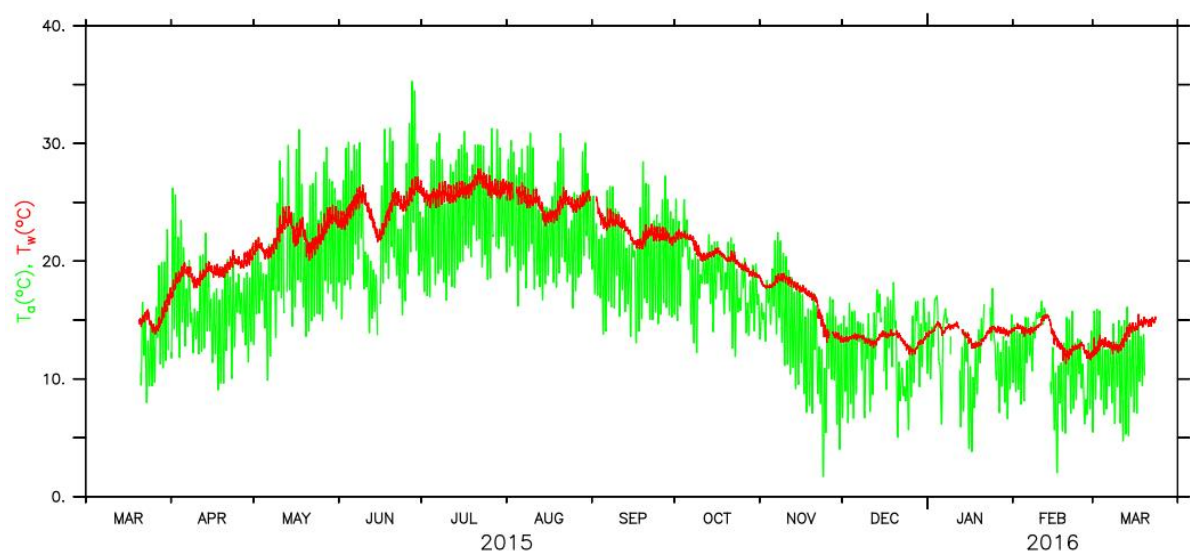


Figura 3.8. Evolução da temperatura da água do estuário do Sado (curva a vermelho), registada com o sensor (CTD Star Oddi) fundeado no pilar da ponte ferroviária sobre o Canal de Alcácer, junto ao banco Batalha, e da temperatura do ar (curva a verde) registada na estação meteorológica do IPMA de Alcácer do Sal. As temperaturas do ar registadas são as médias dos últimos 10 minutos de cada hora.

Distribuição temporal de clorofila *a* e fitoplâncton

Com o intuito de aferir a concentração de clorofila *a* e a abundância de fitoplâncton nas imediações das zonas onde se efetuaram as experiências de assentamento de ostras, foram medidas as concentrações de clorofila *a* nas estações 3 e 4 e observadas as amostras de fitoplâncton recolhidas na estação 3.

Ao longo do período em estudo, as variáveis bióticas medidas nas duas estações exibiram uma evolução semelhante. Os valores mais elevados de concentrações de clorofila *a* nas amostras de água foram registados durante a primavera e o verão e os menores entre outubro e dezembro (fig. 3.9.).

Os valores de clorofila *a* variaram, na estação 3, entre 7,9 mg/m³, em maio ($\pm \sigma = 1,15$), e 1,0 mg/m³, em dezembro ($\pm \sigma = 0,03$). Na estação 4, as concentrações tiveram valores entre 6,5 mg/m³ ($\pm \sigma = 0,07$) e 0.8 mg/m³ ($\pm \sigma = 0,05$), em agosto e dezembro de 2015, respetivamente.

Na estação 3, registou-se o primeiro máximo na concentração média de clorofila *a* em meados de maio e o seguinte em finais de agosto. Na estação 4, o primeiro máximo foi registado em finais de abril e o segundo no início de agosto (fig. 3.9.).

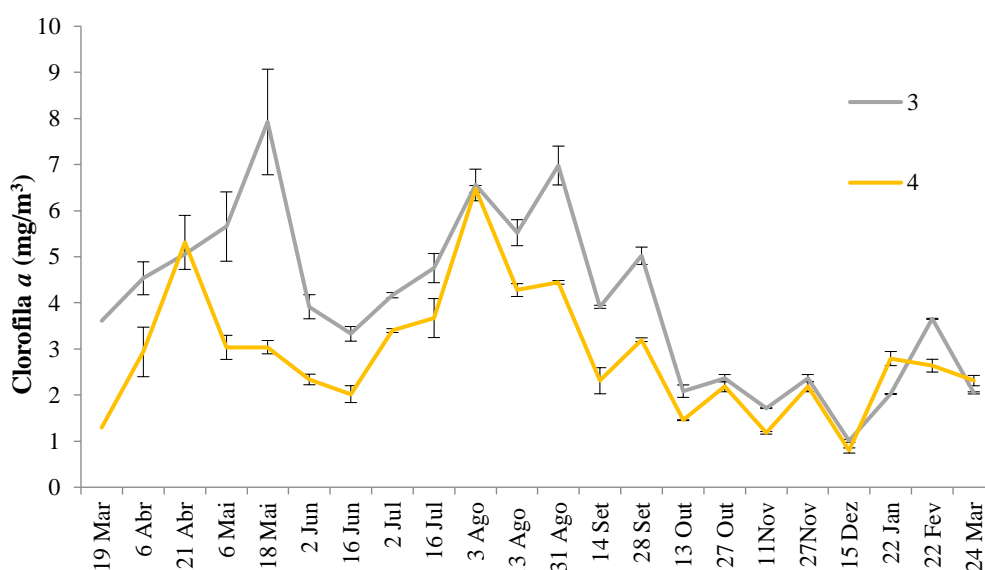


Figura 3.9. Evolução sazonal dos valores médios \pm desvio padrão da concentração de clorofila *a* (mg/m³), durante o período em estudo (periodicidade quinzenal de março a dezembro de 2015, periodicidade mensal de dezembro de 2015 a março de 2016), no estuário do Sado (estações 3 e 4).

Quanto ao fitoplâncton, o grupo mais abundante foi *Bacillariophyceae* (diatomáceas) e, no geral, os tamanhos das células observadas variaram entre 5 μ m e 375 μ m. As densidades mais elevadas registaram-se entre junho e novembro. Foram observados diversos picos durante o período em estudo, sendo o primeiro em junho (fig. 3.10.).

O mês que apresentou maior número de células contadas foi agosto (28300 cél./L) e foi também neste mês que se registou a maior quantidade de células com tamanhos inferiores a 30 μ m (12800 cél./L) (tamanho máximo das partículas ingeridas pelas larvas). Dezembro foi o mês que registou menores abundâncias totais e de células com tamanhos inferiores a 30 μ m (5700 cél./L e 800 cél./L, respetivamente).

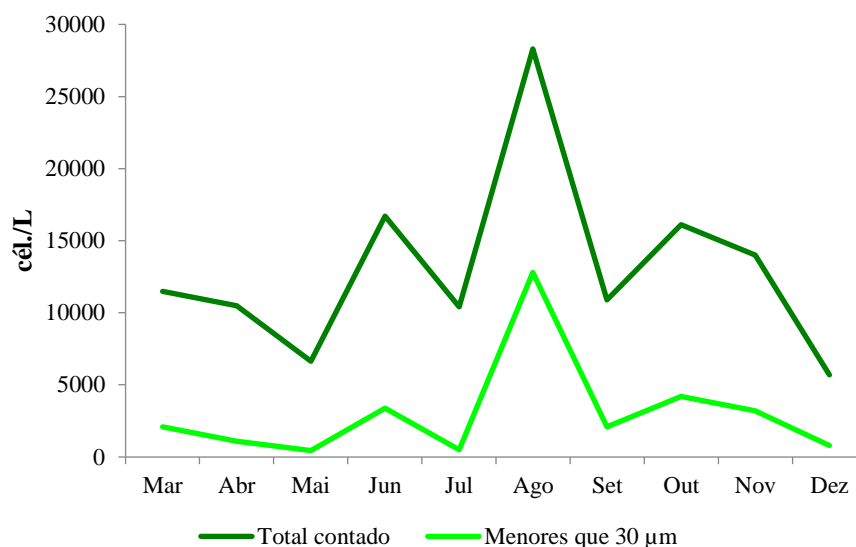


Figura 3.10. Evolução das concentrações totais de células de fitoplâncton (células por litro) e das concentrações de células com tamanhos inferiores a 30 µm, em cada mês de amostragem, no estuário do Sado (estação 3).

3.3.2. Larvas de ostra e de outros bivalves no zooplâncton

Distribuição temporal de abundância larvar de ostra e de outros bivalves

A distribuição temporal da abundância de larvas de ostra no estuário do Sado e a sua disponibilidade para assentamento foram aferidas mediante a análise das amostras de plâncton obtidas com periodicidade quinzenal desde o início do período de estudo e mensal a partir de dezembro de 2015. Foram escolhidas estas duas estações devido à proximidade de bancos muito ativos e por uma análise preliminar das amostras ter mostrado a ocorrência de maior abundância de larvas face às outras estações amostrais.

Foram recolhidas larvas de bivalves durante todo o período em estudo, com particular incidência em maio, sendo mais abundantes na estação 4 entre maio e agosto de 2015. As maiores abundâncias foram registadas em maio, quer na estação 3, quer na estação 4 (fig. 3.11).

As larvas de ostra seguiram um padrão semelhante, estando presentes entre março de 2015 e janeiro de 2016, representando cerca de 28 % de todas as larvas de bivalves recolhidas. Apenas foram mais representativas relativamente aos restantes bivalves, na estação 4 e durante o período compreendido entre maio e julho de 2015 (fig. 3.11.). Foi igualmente nesse período, em maio, que se registaram as maiores abundâncias de larvas de ostra: 39 % do total na estação 3 e 52 % do total na estação 4.

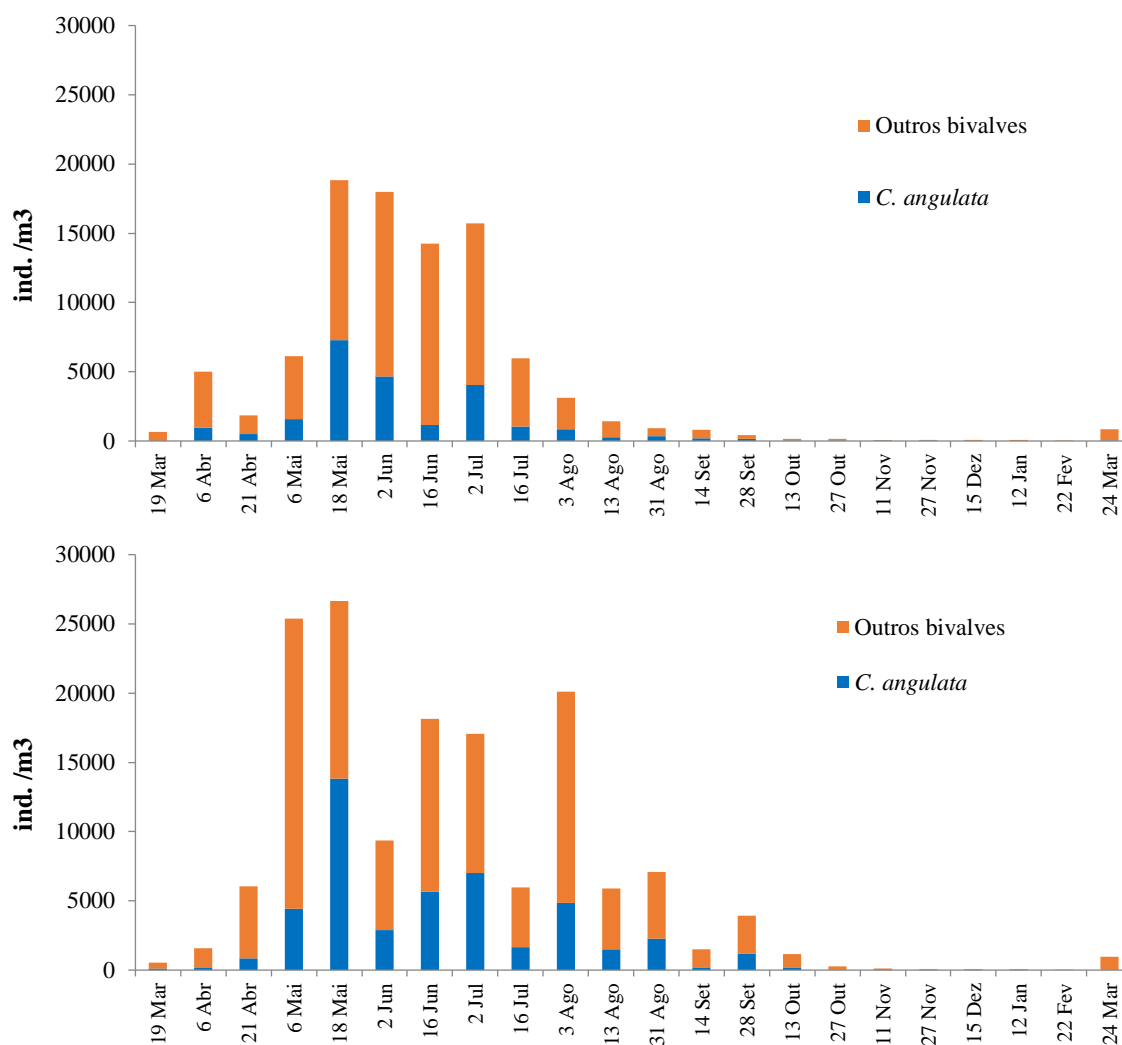


Figura 3.11. Variação temporal da abundância (ind./m³) de larvas de *C. angulata* (a azul) e de outros bivalves (a laranja) entre março de 2015 e março de 2016, nas estações de amostragem 3 (gráfico superior) e 4 (gráfico inferior) estabelecidas no estuário do Sado.

Distribuição temporal de abundância de estados larvares de ostra

As maiores abundâncias de *C. angulata* do período em estudo foram observadas na estação 4 entre maio e agosto, no entanto, entre maio e julho na estação 3 também se registaram elevadas abundâncias de larvas desta espécie (fig. 3.12.). A partir do final de outubro, as abundâncias decresceram acentuadamente nos dois pontos de amostragem.

As larvas D (estado I) apresentaram maiores abundâncias em abril e no início de maio. As larvas no estado II de desenvolvimento foram observadas em maio, junho e agosto, maioritariamente. Quanto às larvas no estado III, foram as formas larvares mais abundantes durante todo o período em estudo, registando grandes abundâncias entre abril e finais de setembro. O último estado larvar e anterior à fixação registou as maiores abundâncias no período entre maio e julho, sendo reportado a maio o maior registo (fig. 3.11).

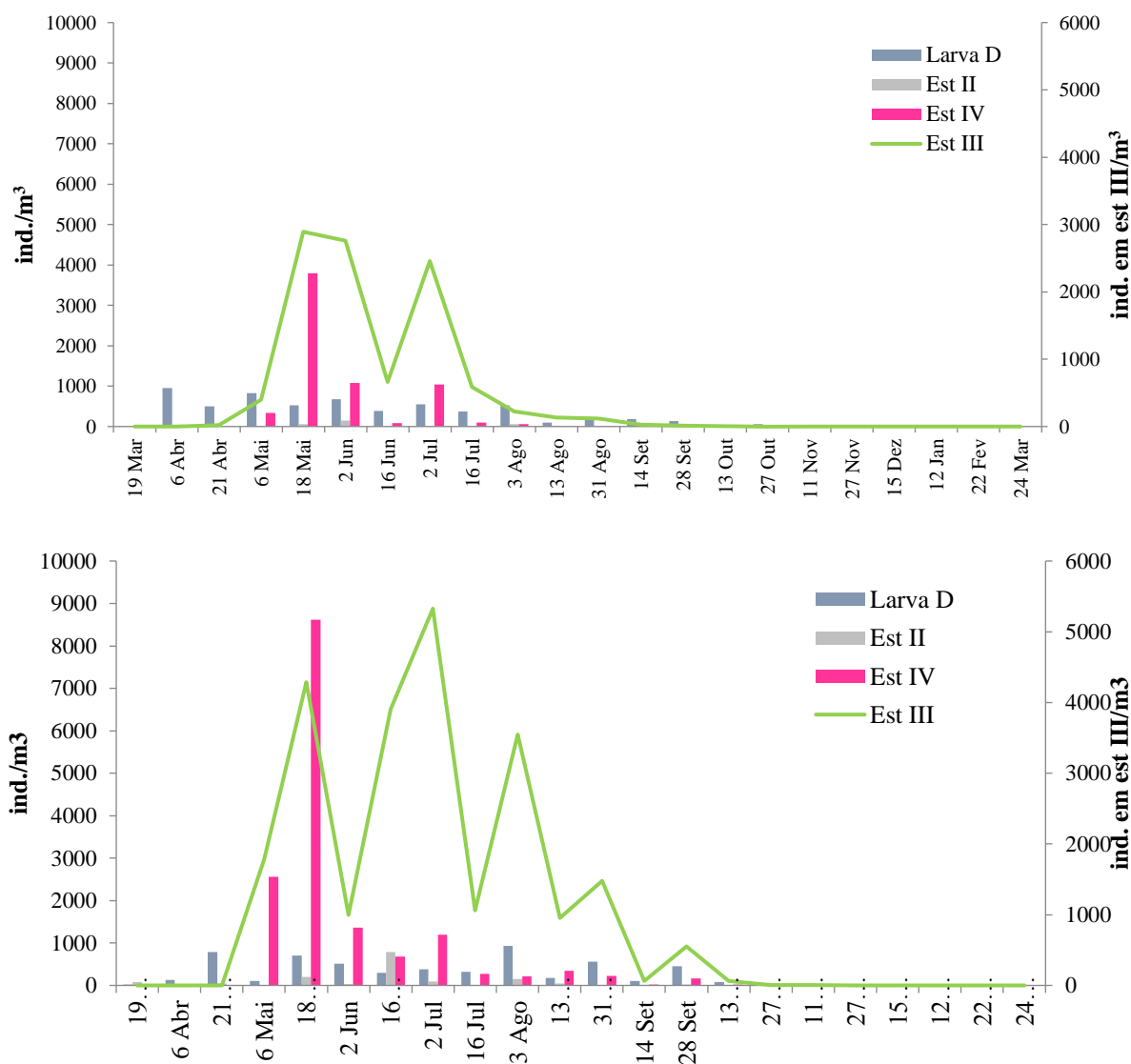


Figura 3.12. Variação temporal da abundância (ind./m³) dos diversos estados larvares de *C. angulata*: Larva D/ Estado I (a cinza escuro); Estado II (a cinza claro); Estado III (linha verde e os valores correspondem ao eixo da direita); e Estado IV (a rosa); entre março de 2015 e março de 2016, nas estações de amostragem 3 (painel superior) e 4 (painel inferior) estabelecidas no estuário do Sado.

3.3.3. Experiências de assentamento de ostras

Assentamento: visão geral

A fase pelágica das ostras fica concluída com o assentamento em substratos rígidos, como conchas de conspecíficos ou outros substratos naturais ou artificiais. No presente estudo foi analisada a distribuição temporal do assentamento em substrato artificial, em diversos locais, e estudada a sua relação com a abundância larvar. Os locais selecionados incluíram três em zonas de bancos naturais de ostras e outro sem um banco pré-existente ou qualquer substrato natural.

Foram assim colocados coletores com periodicidade mensal nos vários locais, a partir de 20 de abril de 2015 e até 24 de março de 2016. Alguns não foram recuperados, por terem sido destruídos ou deslocados dos locais de amostragem, o que limitou bastante o tipo de análises inicialmente definidas e o cumprimento integral dos objetivos desta tarefa. Dos 58 coletores colocados, 17 não foram encontrados para recolha e subsequente análise.

A análise temporal do assentamento permitiu identificar o início da época de fixação das larvas entre 20 de maio e 3 de junho. Mais pormenorizadamente, os coletores colocados a 20 de abril nos vários locais não foram todos recuperados no mês seguinte (20 de maio). Os que foram recuperados no banco Monte da Pedra, no banco Batalha e no Lodaçal não registaram assentamento. Os que apenas foram recuperados a 3 de junho, no Lodaçal e no banco Cachopos, já registaram ostras fixas (menores que 1 cm), o que indica que o período de assentamento se iniciou nesse intervalo de tempo.

Foram identificadas duas espécies de ostra nos coletores ao longo do período em estudo, *Crassostrea angulata* e *Ostrea stentina* (ostra-portuguesa e ostra-anã, respetivamente). Foram contadas 11240 ostras assentadas, das quais apenas 2,5 % não puderam ser identificadas e, por isso, foram repartidas proporcionalmente pelas duas espécies encontradas.

Outros organismos também se fixaram aos coletores destinados à fixação de ostras. Entre estes, os mais abundantes foram as cracas da espécie *Amphibalanus improvisus*, que se fixaram predominantemente entre junho e setembro nos coletores posicionados no banco Monte da Pedra e no banco Cachopos.

Assentamento: distribuição espacial

Para a análise espacial do assentamento de *C. angulata* no estuário do Sado foi inicialmente efetuada a comparação dos dados globais recolhidos nos 4 locais amostrados. Em termos relativos, o banco Batalha e o local Lodaçal são os que registam maior assentamento relativo de *C. angulata*. O banco Cachopos registou maior assentamento de *O. stentina*, quer em termos relativos, quer em termos numéricos (fig. 3.13.). O assentamento diferenciado foi estatisticamente significativo (tab. 3.2.). Os testes pareados (testes *a posteriori*) mostraram que apenas não ocorreram diferenças significativas entre o banco Monte da Pedra e o banco Batalha (mais próximos) e entre o banco Monte da Pedra e o local Lodaçal (tab. 3.2.).

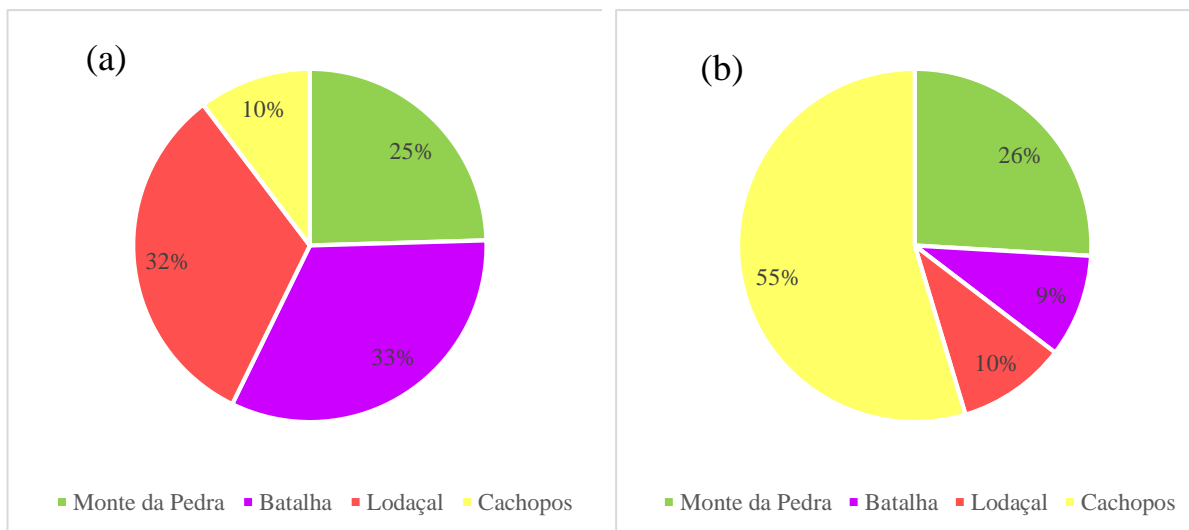


Figura 3.13. Proporção relativa de assentamento de *C. angulata* (a) e de *O. stentina* (b), nos vários locais estudados do estuário do Sado, desde 20 de abril de 2015 a 24 de março e 2016. Foram tidos em conta os dados totais de fixação de ostras em cada local. No banco Monte da Pedra (a verde) foram recolhidas 227 ostras, no banco Batalha (a roxo) foram recolhidas 48 ostras, no Lodaçal (a vermelho) foram recolhidas 514 ostras e no banco Cachopos (a amarelo) foram recolhidas 10451 ostras. Das 11240 ostras que se fixaram aos coletores, 2,5 % não foram identificáveis e foram proporcionalmente distribuídas pelas duas espécies identificadas.

Tabela 3.2. Comparação do número de ostras fixas nos coletores nos diversos locais de assentamento. Foram utilizados os dados totais das contagens das duas espécies identificadas (*C. angulata* e *O. stentina*). Resultado do teste principal da PERMANOVA: pseudo-F= 9,0532; P(perm)= 0,001; P(MC)=0,001.

Testes pareados: Local	t	P(perm)	P(MC)
Monte da Pedra, Batalha	0,88418	0,482	0,4
Monte da Pedra, Lodaçal	1,4875	0,107	0,121
Monte da Pedra, Cachopos	2,8082	0,009	0,011
Batalha, Lodaçal	2,3335	0,018	0,015
Batalha, Cachopos	3,2452	0,002	0,003
Lodaçal, Cachopos	3,064	0,004	0,004

Quando se consideraram somente os dados do assentamento de *C. angulata*, verificou-se igualmente a ocorrência de diferenças significativas entre locais e nos testes *a posteriori* verificou-se, mais uma vez, que apenas não existiam diferenças significativas entre o banco Monte da Pedra e o banco Batalha e entre o banco Monte da Pedra e o local Lodaçal (tab. 3.3.).

Tabela 3.3. Comparação do número de exemplares *C. angulata* presentes nos coletores nos diversos locais da experiência de assentamento. Resultado do teste principal da PERMANOVA: pseudo-F= 10,065; P(perm)= 0,001; P(MC)=0,001.

Testes pareados: Local	t	P(perm)	P(MC)
Monte da Pedra, Batalha	0,82535	0,405	0,407
Monte da Pedra, Lodaçal	1,7409	0,11	0,095
Monte da Pedra, Cachopos	3,2376	0,003	0,006
Batalha, Lodaçal	2,4494	0,015	0,024
Batalha, Cachopos	3,7637	0,002	0,001
Lodaçal, Cachopos	2,8492	0,01	0,008

Na análise sobre o assentamento de *O. stentina* também se comprovou que existiam diferenças significativas entre locais e nas comparações pareadas confirmou-se que essas diferenças ocorreram entre o banco Cachopos e os restantes locais (tab. 3.4.).

Tabela 3.4. Comparação do número de efetivos de *O. stentina* nos coletores presentes nos diversos locais de amostragem. Resultado do teste principal da PERMANOVA: pseudo-F= 8,6867; P(perm)= 0,001; P(MC)=0,001.

Testes pareados: Local	t	P(perm)	P(MC)
Monte da Pedra, Batalha	0,93238	0,532	0,341
Monte da Pedra, Lodaçal	7,3042e ⁻²	0,961	0,947
Monte da Pedra, Cachopos	2,659	0,018	0,014
Batalha, Lodaçal	1,4859	0,156	0,157
Batalha, Cachopos	3,0644	0,003	0,011
Lodaçal, Cachopos	3,1633	0,003	0,004

Assentamento: distribuição temporal em Lodaçal e Cachopos

Com o objetivo de analisar a regularidade e a intensidade do assentamento em termos temporais, efetuou-se uma comparação entre o Lodaçal e o banco Cachopos. Estes locais foram escolhidos por apresentarem maior continuidade de dados (menor número de coletores perdidos) relativamente aos restantes locais.

Os dados destes dois locais evidenciaram o início do período de assentamento, a finais de maio, sendo que este perdurou até outubro. Nos meses de maior intensidade de assentamento predominou *C. angulata* no Lodaçal (julho e agosto) e *O. stentina* no banco Cachopos (maio a julho, inclusive) (fig. 3.14.).

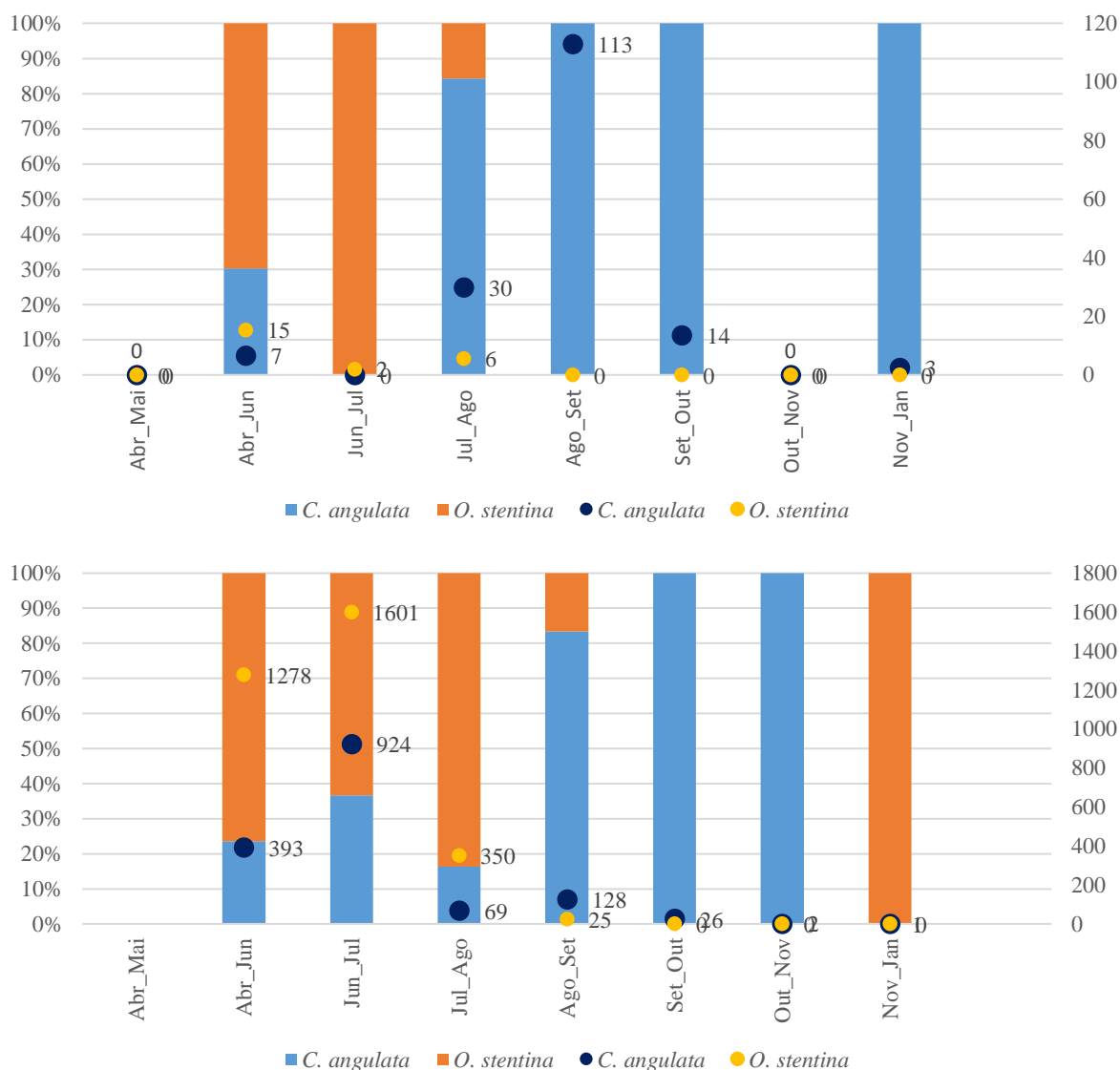


Figura 3.14. Proporções entre *C. angulata*, a azul, e *O. stentina*, a laranja (eixo da esquerda); e número absoluto de indivíduos assentados de *C. angulata*, pontos azuis-escuros, e de *O. stentina*, pontos amarelos (eixo da direita); durante o período em estudo para o local Lodaçal (painel superior) e para o local do banco Cachopos (painel inferior). O Lodaçal perdeu um dos coletores em junho (Jun_Jul) e outro em outubro (Out_Nov). O banco Cachopos perdeu um dos coletores nos meses junho (Jun_Jul), julho (Jul_Ago) e setembro (Set_Out); em maio (Abr_Mai) não foi possível recolher coletores, sendo recuperados na data seguinte, os dados correspondem ao período entre abril e junho (Abr_Jun).

Assim, analisando temporalmente o número de efetivos presentes nos coletores dos dois locais, aferiu-se que existiam diferenças significativas entre locais e entre datas do mesmo local (tab. 3.5.). Nos testes pareados provou-se que existiam diferenças significativas entre os dois locais (PAIR-WISE: Groups= Lodaçal, Cachopos $t = 6,3347$; $P(\text{perm}) = 0,337$; $P(\text{MC}) = 0,001$), essas diferenças destacam-se para o período entre abril e junho e para o mês de agosto (tab. 3.5.). No Lodaçal tal como no banco Cachopos provou-se que existiam diferenças significativas entre datas (tab. 3.6.).

Tabela 3.5. Comparação entre locais para o mesmo intervalo de tempo (de 4 de agosto a 2 de setembro de 2015 e de 20 de abril a 3 de junho de 2015). Apenas são apresentados os resultados que evidenciaram diferenças significativas (na interação entre os dois fatores data e local). Resultado do teste principal: [Data] pseudo-F= 11,013; P(perm)= 0,003; P(MC)= 0,001. [Local] pseudo-F= 40,128; P(perm)= 0,001 P(MC)= 0,001. [Da*Lo] pseudo-F= 9,789; P(perm)= 0,006 P(MC)= 0,001.

Testes pareados: Locais				
Ago_Set				
	Grupo	t	P(perm)	P(MC)
	Lodaçal, Cachopos	3,5672	0,337	0,043
Abr_Jun				
	Grupo	t	P(perm)	P(MC)
	Lodaçal, Cachopos	4,3818	0,056	0,006

Tabela 3.6. Evolução temporal do assentamento em cada local. Apenas são apresentados os resultados que evidenciaram diferenças significativas (na interação entre os fatores data e local). Resultado do teste principal da PERMANOVA: [Data] pseudo-F= 11,013; P(perm)= 0,003; P(MC)= 0,001. [Local] pseudo-F= 40,128; P(perm)= 0,001 P(MC)= 0,001. [Da*Lo] pseudo-F= 9,789; P(perm)= 0,006 P(MC)= 0,001.

Testes pareados: Datas							
Lodaçal				Banco Cachopos			
Grupos	t	P(perm)	P(MC)	Grupos	t	P(perm)	P(MC)
Abr_Mai, Ago_Set	9,7232	0,324	0,005	Jul_Ago, Nov_Jan	23,109	0,336	0,029
Abr_Mai, Abr_Jun	11,004	0,318	0,009	Jul_Ago, Out_Nov	31,477	0,317	0,006
Ago_Set, Set_Out	4,6338	0,366	0,045	Ago_Set, Nov_Jan	11,877	0,344	0,005
Ago_Set, Nov_Jan	6,0628	0,352	0,027	Ago_Set, Jun_Jul	25,837	0,355	0,019
Ago_Set, Abr_Jun	7,6242	0,333	0,011	Ago_Set, Out_Nov	11,513	0,352	0,002
Set_Out, Abr_Jun	3,4982	0,323	0,045	Ago_Set, Abr_Jun	3,8357	0,066	0,014
Nov_Jan, Abr_Jun	3,4839	0,334	0,029	Set_Out, Abr_Jun	3,1429	0,191	0,044
				Nov_Jan, Jun_Jul	57,564	0,351	0,009
				Nov_Jan, Abr_Jun	4,9081	0,065	0,009
				Jun_Jul, Out_Nov	77,976	0,319	0,006
				Out_Nov, Abr_Jun	4,8822	0,052	0,004

Assentamento: distribuição diferencial na estrutura dos coletores

Com o intuito de entender a forma de assentamento das ostras no coletor procedeu-se à análise dos números de indivíduos assentados nas várias partes das estruturas de amostragem recolhidas nos quatro locais testados. No global, é na parte superior do coletor onde ocorre maior assentamento relativo de *C. angulata* face a *O. stentina* (fig. 3.15. (a)). Mas é nos patamares intermédio e inferior que se registam maiores números de juvenis das duas espécies. Quanto à preferência por um dos lados da telha (exterior vs interior), não parece haver seletividade (fig. 3.15. (b) e (c))

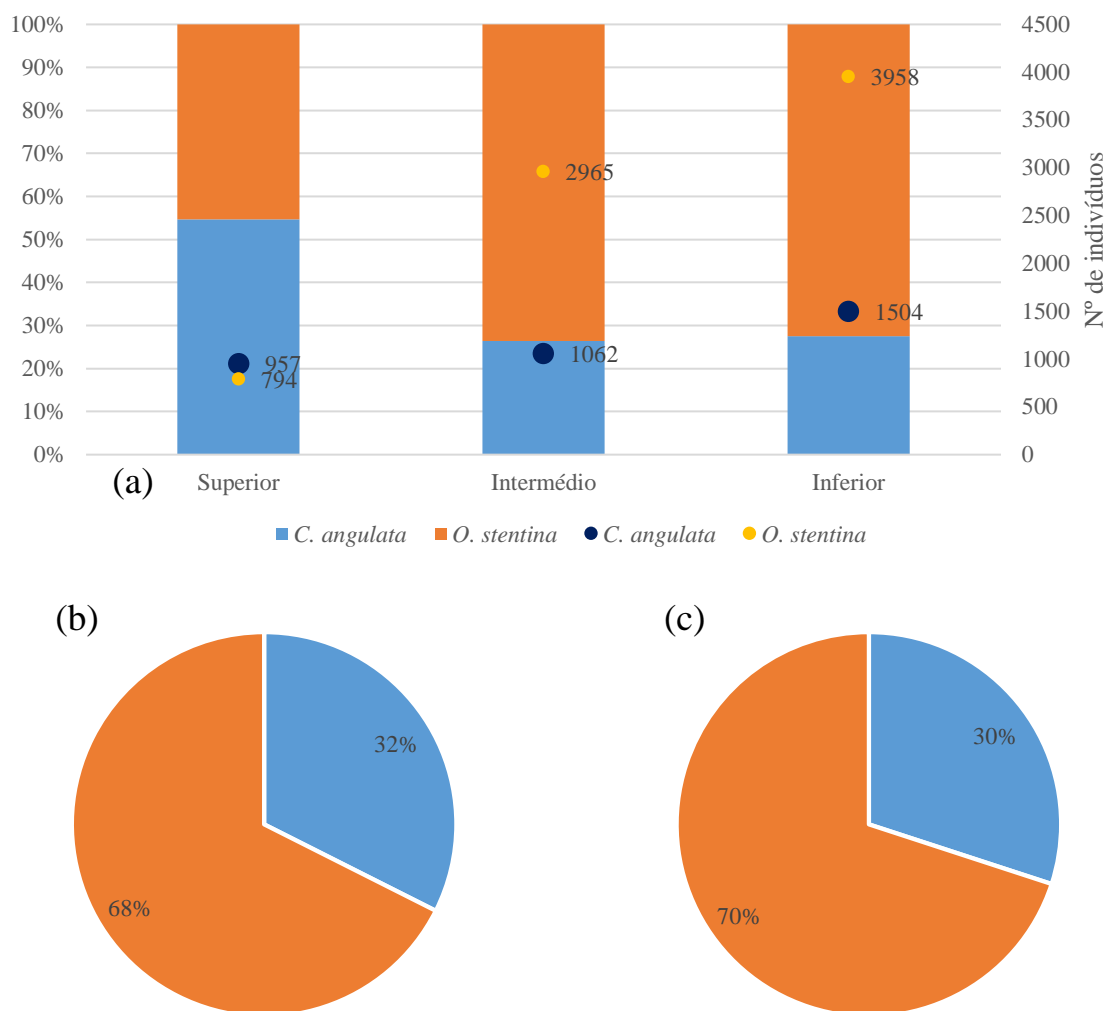


Figura 3.15. Assentamento por patamares (a) e assentamento por faces das telhas (b – exterior; c – interior). Assentamento diferencial relativo de *C. angulata* e *O. stentina* na estrutura do coletor ((a) eixo da esquerda) e número absoluto de indivíduos assentados de *C. angulata*, pontos azuis-escuros, e de *O. stentina*, pontos amarelos ((a) eixo da direita); dados referentes a todos os locais de amostragem e à totalidade do período em estudo (de 20 de abril de 2015 a 24 de março de 2016).

3.3.4. Variáveis abióticas e bióticas, fase larvar e assentamento

A figura 3.16. resume os resultados obtidos no estudo da fase larvar e do assentamento de ostras no estuário do Sado. Observou-se que, quando as temperaturas da água são superiores a 18 – 20 °C, começam a registar-se larvas de ostra na água, quando baixam desses valores, as larvas desaparecem quase totalmente das amostras recolhidas. As maiores abundâncias larvares registaram-se antes do início (18 de maio) e novamente a meio do período de assentamento. Apenas o primeiro pico de concentrações de clorofila *a* na estação 3 coincide com elevadas concentrações de larvas de ostra.

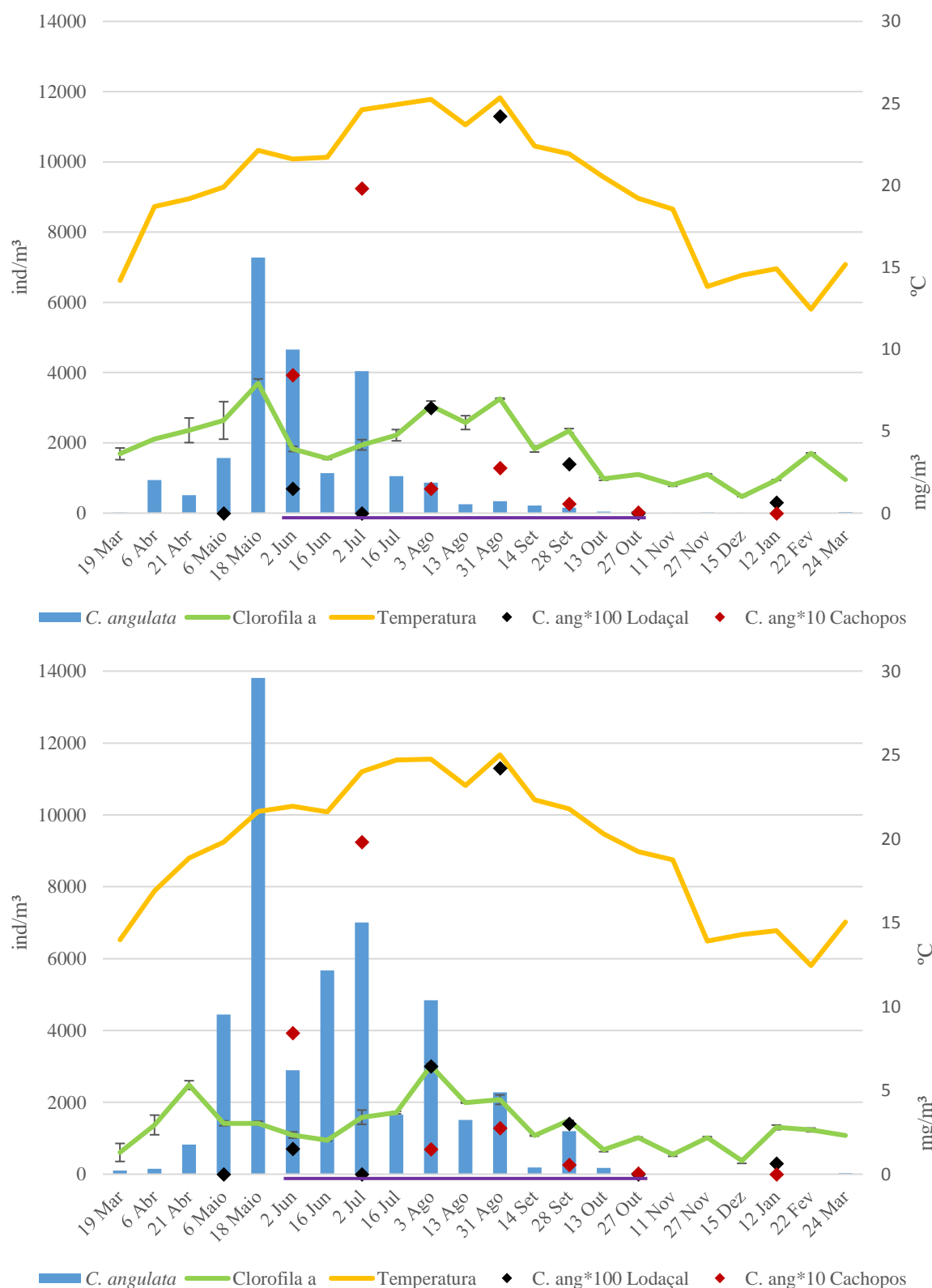


Figura 3.16. Sumário dos resultados obtidos para as estações 3 (painel superior) e 4 (painel inferior) da amostragem de plâncton no estuário do Sado. Estão representadas por barras azuis as abundâncias de larvas de *C. angulata* (ind/m³) em cada estação; pela linha verde as concentrações médias \pm desvio padrão de clorofila *a* (mg/m³) em cada estação; pela linha laranja as temperaturas (°C) medidas pontualmente em cada estação; por pontos pretos os registos de assentamento no Lodaçal (valores apresentados em número de indivíduos multiplicados por 100 para ser possível visualizar no eixo à esquerda) e por pontos vermelhos os registos de assentamento no banco Cachopos (valores apresentados em número de indivíduos multiplicados por 10 para ser possível visualizar no eixo à esquerda). A linha roxa (abaixo do eixo horizontal) representa o período de assentamento.

3.4. Discussão

Vários autores defendem que a desova dos adultos e, conseqüentemente, o aparecimento das larvas na coluna de água depende de fatores ambientais como a temperatura, a salinidade e a quantidade de alimento no meio, destacando a temperatura (Le Dantec, 1968; Shumway, 1996; Pouvreau *et al.*, 2015). Monitorizar a abundância larvar, a temperatura e a salinidade perto dos bancos naturais de ostra onde decorreram as experiências de assentamento foi importante para se conhecer o momento em que se despoletou a reprodução na população, pois o período de assentamento não é fixo e muda de ano para ano. As medições dos parâmetros abióticos evidenciaram flutuações diárias de temperatura e salinidade devido à maré, ao período de insolação e à precipitação. Nas medições mais a jusante é mais notório o efeito de águas oceânicas no ambiente, sendo as oscilações de temperatura e salinidade ligeiras. Nas medições de montante, a influência fluvial e das condições atmosféricas na parte superior do estuário traduz-se em maiores amplitudes de temperatura e de salinidade (Oliveira e Coutinho, 1992; Santos e Miranda, 2006). No âmbito do presente estudo, a partir do momento em que se registaram temperaturas na água superiores a 18 - 20 °C (início de abril), começaram a ocorrer larvas de ostra no plâncton e no momento em que as temperaturas baixaram desse valor as larvas tornaram-se praticamente inexistentes, observações que estão de acordo com registos anteriores sobre a reprodução de ostras (Vilela, 1975). Relativamente à salinidade registada perto dos bancos naturais (sensor da ponte), as ostras estiveram sujeitas a variações entre 5 a 30 unidades de salinidade. A salinidade do meio é apontada como um fator que, quando é baixo, pode inibir a desova ou mesmo o desenvolvimento pré-desova, sendo ainda mal conhecido (Shumway, 1996). Todavia, a ostra-portuguesa pode sobreviver a salinidades entre 2 a 6 unidades durante pouco tempo e após forte pluviosidade (Ruano, 1997), sendo que os valores mais baixos se registaram efetivamente durante períodos de maior pluviosidade (IPMA, dados não publicados).

As recolhas de amostras de água para determinação da concentração de clorofila *a* e abundância de fitoplâncton realizaram-se paralelamente à amostragem de zooplâncton e, as contagens de organismos fitoplânctónicos foram particularmente dificultadas pela grande quantidade de material em suspensão. As concentrações de clorofila *a* e fitoplâncton registadas neste estudo foram concordantes com estudos anteriores realizados neste estuário (Oliveira e Coutinho, 1992; Cabeçadas *et al.*, 1994; Coutinho, 1994; Coutinho, 2003). Para além disso, tal como anteriormente, o grupo fitoplanctónico mais abundante foi também o das *Bacillariophyceae*. As abundâncias máximas de fitoplâncton (junho, agosto e outubro), tanto totais como de indivíduos menores que 30 µm, foram coincidentes com marés vivas associadas a situações de lua cheia ou a lua nova, enquanto as mínimas (dezembro) estiveram relacionadas com marés mortas. Os valores máximos de clorofila *a*, relativos ao mês de maio, na estação 3, coincidiram com os valores máximos de abundância de larvas de ostra no plâncton e antecederam o período de assentamento. As concentrações de clorofila *a* na estação 4 registaram um pequeno pico em abril, antes das maiores concentrações de larvas de ostra no plâncton, e outro pico em agosto, que precede os valores máximos de assentamento de *C. angulata* no Lodaçal.

As contagens e identificações de larvas nas amostras de plâncton foram morosas, pois estas também continham grandes quantidades de sedimento em suspensão e grandes abundâncias de copépodes e organismos meroplanctontes, grupos igualmente numerosos em estudos anteriores no mesmo estuário, na zona costeira adjacente e em estuários próximos (Monteiro, 1996; Cabeçadas *et al.*, 2004; Marques, 2013).

Temporalmente e à semelhança de estudos realizados no estuário entre 1963 e 1966, que verificaram a presença de larvas no plâncton entre maio e novembro, as larvas em 2015 estiveram presentes de abril a novembro (Vilela, 1975). A respeito das formas larvares de ostra, a larva D, a que tem menor tamanho

e o primeiro estado de desenvolvimento larvar, foi mais numerosa em abril. O estado II foi mais abundante em junho e o estado III foi bastante abundante durante todo o estudo, evidenciando o constante desenvolvimento de larvas. O estado IV de desenvolvimento, e o último antes da fixação, foi mais abundante em maio, precedendo o início do período de assentamento.

Apesar de serem capazes de controlar, de alguma maneira, a sua localização na coluna de água, através de migrações verticais ou horizontais para a margem, as larvas são arrastadas em cada maré (Qiu *et al.*, 2015). As correntes de maré podem, potencialmente, levar as larvas do ponto inicial até 1,8 km, ao fim de uma hora (Anónimo, 2016). Assim, dando atenção à fase de maré em que a amostragem se realizava, é expectável que as larvas (a maioria) recolhidas nas estações 3 e 4 sejam originárias dos bancos mais a montante, referenciados noutros trabalhos, onde os indivíduos adultos são mais abundantes e mais ativos (Ruano e Dias, 1994; Ruano, 1997).

Segundo estudos anteriores, 90 % das larvas morre antes da fixação e só uma décima milésima do total consegue assentar. Além disso, as mortalidades tendem a ser maiores, quanto maior for a quantidade de sedimento em suspensão na coluna de água (Vilela, 1975; Ruano, 1997). O assentamento deu-se desde finais de maio até finais de outubro e os principais competidores por espaço e por alimento foram as cracas da espécie *Amphibalanus improvisus*, exótica presente no estuário e já muito abundante nos restantes estuários e zonas costeiras portuguesas; e a ostra-anã (*Ostrea stentina*), que ocupou bastantes zonas de bancos de ostra-portuguesa após o seu declínio (Ruano, 1997; Anónimo, 2012). O assentamento de ostra-anã tem vindo a ser reportado por aquacultores que, devido à difícil distinção entre espécies na fase inicial de crescimento, só ao fim de alguns meses notam que não têm a espécie pretendida a crescer nos coletores.

Para se analisar espacialmente o assentamento coloraram-se coletores em quatro locais no Canal de Alcácer. As estruturas de amostragem foram renovadas regularmente, porém muitas desapareceram, limitando as possíveis análises. O banco Batalha e o Lodaçal foram os locais em que o assentamento relativo da espécie em estudo foi mais elevado, contudo, em termos numéricos, foi no banco Cachopos que se registaram mais indivíduos de *C. angulata*. Neste último, o assentamento relativo de ostra-anã (*O. stentina*) foi maior e bastante intenso durante todo o período em estudo. Em estudos anteriores, os bancos Monte da Pedra e Cachopos eram incluídos no grupo de bancos mais ativos do estuário (Dias, 1994; Ruano e Dias, 1994), no entanto, os outros dois locais (banco Batalha e Lodaçal) reúnem, igualmente, condições ao desenvolvimento da espécie. Será importante a continuação e o alargamento destas experiências de assentamento nesta zona e em outras zonas do estuário para um melhor conhecimento sobre a espécie, bem como da sua distribuição ao longo do intertidal.

Para a análise temporal da regularidade do assentamento foram analisados o Lodaçal e o banco Cachopos. Nestes dois locais não desapareceram tantos coletores e, por isso, foi possível fazer esta análise. É uma análise interessante, pois, se por um lado, se considerou um local com exploração histórica (banco Cachopos), por outro considerou-se um local sem banco natural, apenas com estruturas de amostragem dispostas na plataforma intertidal de vasa. No Lodaçal, o número de ostras fixas não foi constante nas várias datas de recolha e foi no mês de agosto que se registou a maior intensidade de assentamento de *C. angulata*. No banco Cachopos o assentamento foi bastante diferente dos outros locais, predominando *O. stentina*, e foi em junho que aí se registou o maior número de indivíduos das duas espécies. Perante estes resultados, e estando provado que existe fixação em locais sem banco natural se existirem as condições certas de substrato, tudo indica que será possível intervir na recuperação, expansão e criação de novos locais para as populações naturais.

Na avaliação do assentamento nos níveis e nas faces das telhas dos coletores percebeu-se que, globalmente, o nível superior teve maior fixação relativa de juvenis de *C. angulata* e não houve

preferência entre as faces interior e exterior das telhas. Tal como era expectável, foi nos andares inferiores que se registou maior número de ostras devido ao comparativamente mais reduzido hidrodinamismo junto ao fundo (Vilela, 1975), no entanto, esse assentamento foi maioritariamente de ostra-anã.

As experiências com coletores revelaram que as larvas de *C. angulata* se fixam e crescem nestas estruturas artificiais com sucesso, constituindo uma potencial forma diferente e rentável de recrutamento para cultivo da espécie (Vilela, 1975). Esta prática, para além de aumentar o espaço disponível à fixação, poderá enriquecer o *pool* genético das populações cultivadas em estabelecimentos de aquacultura pois, larvas que sobrevivam aos elementos apresentam maior variabilidade genética, sendo mais resistentes do que as que são produzidas artificialmente (*e.g.* culturas puras). Adicionalmente, estudos recentes sobre assentamento demonstram que cobrir os coletores de PVC com cimento aumenta a aderência de larvas e, portanto, aumenta a sua eficiência (Manly *et al.*, 2008).

Por fim, ações artificiais de povoamento com recurso a conchas ou blocos de cimento, idênticas às realizadas em outras zonas de produção de ostras a nível mundial (*e.g.* Baía de Chesapeake, EUA), serão, com grande probabilidade, bem-sucedidas e importantes para a expansão da espécie, pois quanto maior for o número de indivíduos adultos a emitir gâmetas, mais larvas irão estar disponíveis para se fixarem (Allen *et al.*, 2013).

Capítulo 4

Considerações Finais

4. Considerações Finais

Com este estudo atualizou-se a informação sobre a distribuição espacial de ostras no estuário do Sado, determinou-se a distribuição temporal das suas larvas na coluna de água e o respetivo período de assentamento. Este estudo constitui um reforço do conhecimento sobre a ecologia e o ciclo de vida da ostra-portuguesa e sobre os métodos para a sua produção.

Foi possível determinar que a distribuição de ostra-portuguesa se concentra essencialmente no Canal de Alcácer, que os bancos naturais do intertidal também compreendem zonas permanentemente imersas do subtidal e que a distribuição é mais alargada relativamente a referências anteriores. Foi também importante a análise da comunidade de bivalves para detetar potenciais ameaças de espécies exóticas. A ameijoja-japonesa poderá constituir uma grande ameaça à ostra-portuguesa, caso se venha a verificar competição por espaço e por alimento e caso esta se torne invasora no sistema, como aconteceu noutros estuários. Por enquanto, a abundância elevada de ostra-anã em alguns locais no Canal de Alcácer será mais nefasta para as eventuais rotinas de exploração que envolvam os bancos naturais. Para além disso, foi ainda possível estabelecer uma relação entre a abundância subtidal de *C. angulata* e alguns fatores ambientais medidos, onde a matéria orgânica presente no sedimento e o tamanho médio dos grãos desse sedimento são fatores preponderantes na abundância da espécie.

No estudo direcionado às larvas de ostra e às experiências de assentamento foi importante perceber que a maior concentração de larvas no estado IV de desenvolvimento (prontas a assentar) e as maiores concentrações de clorofila *a* se observam antes do início do período de assentamento. Este período não foi regular e a maior intensidade de juvenis fixos observou-se nos meses mais quentes. Além disso, as larvas estiveram presentes na água a partir de temperaturas superiores ao limiar térmico dos 18 – 20 °C. A competição das cracas e da ostra-anã foi considerável nesta fase, tanto por espaço, como possivelmente por alimento. No banco Monte da Pedra e banco Batalha foram os locais onde não foi possível recuperar grande parte das estruturas de amostragem, limitando as análises feitas aos dados recolhidos. No banco Cachopos o assentamento foi dominado por ostra-anã e o assentamento e crescimento de ostras no Lodaçal confirmou que é exequível promover a expansão dos bancos naturais e uma eventual criação de novos bancos. Os dados evidenciaram ainda que é no nível inferior do coletor que se fixam mais ostras, embora a maioria tenha sido ostra-anã. Na realidade, a maior proporção de ostra-portuguesa assente foi observada no nível superior da estrutura.

Uma vez que ainda existem algumas falhas no conhecimento acerca da ostra-portuguesa, estudos futuros deveriam incidir sobre assuntos como:

- Distribuição da espécie no estuário do Sado - O esteiro da Marateca foi uma zona pouco explorada neste estudo e é o local onde se concentra a maioria das aquiculturas do estuário do Sado. A realização de ensaios sobre gestão, preservação, melhoramento, expansão e criação de novos bancos naturais será igualmente relevante para a revitalização do setor. Os aquacultores que exploram os bancos naturais deverão ser parte ativa desta gestão, não introduzindo outras espécies de ostra, promovendo a renovação dos bancos com aproveitamento de semente e melhorando a sua qualidade.

- Produção deste molusco bivalve - A informação disponível sobre este setor é pouco detalhada, possivelmente porque, por vezes, nem tudo é revelado às entidades oficiais reguladoras da atividade. A realização de inquéritos aos produtores seria importante para se conhecer um pouco mais sobre a produção e dinâmica da espécie em ambientes artificiais e, para que fosse possível perceber as grandes necessidades do setor, nomeadamente no aumento de produtividade. Deste ponto de vista, também será crucial a monitorização das patologias das populações.

- Assentamento - O êxito da utilização de coletores na recolha de semente de ostra poderá ser estudado de maneira diferente, abordando, por exemplo, a competição pelo espaço de outros organismos como cracas ou ostra-anã. Seria também importante distinguir os períodos de assentamento das espécies encontradas com o intuito de aumentar a produção da espécie pretendida. Neste estudo foram utilizados coletores simples de construção manual/amadora, mas a utilização de coletores industriais em meio natural poderá constituir uma comparação mais fidedigna com outros em tanques aquícolas profissionais. Em laboratório e/ou no meio natural poderá ainda ser estimado o rendimento da reprodução baseado no número de larvas assentadas e na quantidade de larvas presentes na coluna de água, tornando o assentamento o mais rentável possível.

- Distribuição de ostra-portuguesa a nível nacional - Apesar de o estuário do Sado ser o local com maior distribuição e produção da espécie em questão, é necessário conhecer as restantes zonas nacionais no que toca a distribuição, abundância larvar e assentamento da ostra-portuguesa.

Em virtude do grande interesse económico nesta espécie e das fortes pressões que são exercidas no estuário seria importante implementar medidas de gestão adequadas à exploração da mesma. A classificação atual do estuário para a ostreicultura também implica desafios de monitorização de poluentes (de origem natural ou humana) que afetam o sucesso das explorações de um setor que poderia ser muito mais rentável. As medidas de gestão poderão passar por incentivos à utilização sustentável dos bancos naturais, à criação de maternidades, à utilização de coletores comerciais ou à produção de ostra-portuguesa ao invés de outras ostras. Ao ser evitada a importação de semente limita-se a possível introdução de espécies exóticas (de bivalves ou outras) e, consequentemente, a introdução de doenças que comprometem o equilíbrio e a resiliência do sistema da Reserva Natural do Estuário do Sado.

5. Referências bibliográficas

- Allen, S., O'Neill, C., Sowers, A., Weissberger, E., Westby, S. R. (2013) Harris Creek Oyster Restoration Tributary Plan: A blueprint to restore the oyster population in Harris Creek, a tributary of the Choptank River on Maryland's Eastern Shore. NOAA
- Anderson, M. J., Gorley, R. N. e Clarke, K. R. (2008). PERMANOVA + for PRIMER: Guide to Software and Statistical Methods. PRIMER-E: Plymouth, UK.
- Anónimo (2012). INSPECT – Espécies exóticas marinhas introduzidas em estuários e zonas costeiras portuguesas: padrões de distribuição e abundância, vectores e potencial de invasão (PTDC/MAR/73579/2006). Relatório final de execução científica.
- Anónimo (2016). Projeto CrassoSado «Estado atual da ostra portuguesa (*Crassostrea angulata*) no estuário do Sado, ameaças e oportunidades para a sua exploração como recurso – CRASSOSADO». MARE/FCUL: Cabral, H., Costa, J. L., Chainho, P., Marques, F., Portela, T.; IPMA: Ruano, F., Angélico, M. M., Lourenço, H., de Oliveira, P. B., Bandarra, N., Grade, A.; CESAM/UA: Freitas, R., Chiesa, S., Moreira, A., Pires, A.; ICNF: Fernandes, M. J., Falcão, C., Silva, C. Relatório final, 98p.
- Baldwin, B. S. e Newell, R. I. E. (1995). Relative importance of different size food particles in the natural diet of oyster larvae (*Crassostrea virginica*). Marine Ecology Progress Series. University of Maryland System Vol. 120 pp. 135 – 145.
- Bernard, I. 2011. Ecologie de la reproduction de l'huître creuse, *Crassostrea gigas*, sur les côtes françaises: vers une explication de la variabilité du captage. Tese de Doutoramento. Université de La Rochelle.
- Blott, S. J. e Pye, K. (2001). Grandist: A grain size distribution and statistic package for the analysis of unconsolidated sediments. Earth surf. Process. Landforms 26, 1237-1248.
- Cabeçadas, G., Brogueira, M. J. e Rocha, C. (1994). Os nutrientes no controle da produtividade primária do estuário do Sado. Seminário sobre Recursos Haliêuticos, Ambiente, Aquacultura e Qualidade do Pescado da Península de Setúbal (Setúbal, 26 – 27 Abril 1994). Publicações Avulsas do IPIMAR, nº 1, pp. 61-70.
- Cabeçadas, G., Monteiro, M. T., Brogueira, M. J., Guerra, M., Gaudêncio, M. J., dos Passos, M., Cavaco, M. H., Gonçalves, C., Ferronha, H., Nogueira, M., Cabeçadas, P. e Oliveira, A. P. (2004). Caracterização Ambiental da Zona Costeira Adjacente aos Estuários do Tejo e do Sado. Cient. Téc. IPIMAR, Série digital (<http://ipimar-iniap.ipimar.pt>) nº 20, 40p.
- Cabral, H. N. (1999). Ictiofauna do Estuário do Sado. Instituto de Investigação das Pescas e do Mar. Relatórios Científicos e Técnicos, nº 47, 30 pp.
- Caeiro, S., Costa, M. H., Ramos, T. B., Fernandes, F., Silveira, N., Coimbra, A., Medeiros, G. e Painho, M. (2005). Assessing heavy metal contamination in Sado Estuary sediment: na index analysis approach. Ecological Indicators, 5: 151-169.

- Chícharo, L. M. Z. (1996). Sistemática, ecologia e dinâmica de larvas e pós-larvas de bivalves na Ria Formosa. Tese de Doutoramento. Universidade do Algarve, Faro, Portugal.
- Clarke, K. R. e Warwick, R. M. (2001). CHANGE IN MARINE COMMUNITIES: An Approach to Statistical Analysis and Interpretation. 2nd edition. PRIMER-E: Plymouth., 172pp.
- Collet, B., Boudry, P., Thebault, A., Heurtebise, S., Morand, B. e Gérard, A. (1999) Relationship between pre- and post-metamorphic growth in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg). Aquaculture. Elsevier Science. 175 (3-4): 215-226.
- Coutinho, M. T. P. (1994). Variação espaço-temporal do fitoplâncton no Estuário do Sado. Seminário sobre Recursos Haliêuticos, Ambiente, Aquacultura e Qualidade do Pescado da península de Setúbal, Setúbal, (26 - 27 Abril 1994), Publicações avulsas do IPIMAR, 1:195-205. (livro ISSN: 0872 – 914X).
- Coutinho, M. T. P. (2003). Comunidade fitoplanctónica do estuário do Sado - Estrutura, Dinâmica e Aspectos Ecológicos. Provas de acesso à categoria de Investigador Auxiliar. IPIMAR.
- Cross, I., Merlo, M. A., Rodríguez, M. E., Portela-Bens, S. e Rebordinos, L. (2014). Adaptation to abiotic stress in the oyster *Crassostrea angulata* relies on genetic polymorphisms. Elsevier. Fish and Shellfish Immunology. 41(2): 618-624.
- Dias, M. D. S e Nunes, M. C. (1994). Contaminação bacteriana de moluscos bivalves. Seminário sobre Recursos Haliêuticos, Ambiente, Aquacultura e Qualidade do Pescado da península de Setúbal, Setúbal, (26 - 27 Abril 1994), Publicações avulsas do IPIMAR, 1:195-205. (livro ISSN: 0872 – 914X).
- Dias, M. D. S. (1994). Contribuição para o conhecimento da Aquacultura no Estuário do Sado, Seminário de Recursos Haliêuticos, Ambiente, Aquacultura e Qualidade do Pescado na Península de Setúbal, Setúbal, (26 - 27 Abril 1994), Publicações avulsas do IPIMAR, 1:155-166. (livro ISSN: 0872 – 914X).
- dos Santos, M. E. (1998). Golfinhos-Roazes do Sado: Estudos de Sons e Comportamento. Instituto Superior de Psicologia Aplicada. Coleção Teses. 1ª edição.
- Edler, L. e Elbrächter, M. (2010). Microscopic and Molecular Methods for Quantitative Phytoplankton Analysis. Manuals and Guides, ICES. 55:13-20.
- Fabioux, C., Huvet, A., Lapègue, S., Heurtebise, S. e Boudry, P. (2002). Past and present geographical distribution of populations of Portuguese (*Crassostrea angulata*) and Pacific (*C. gigas*) oysters along the European and north African Atlantic coasts. Société Française de Malacologie. Haliotis 31: 33-34
- FAO, 2016. Global aquaculture production 1950-2010. Fisheries Global information system.
- Ferreira, J. G., Simas, T., Nobre, A., Silva, M. C., Shifferegger, K. e Lencart-Silva, J. (2003). Identification of sensitive areas and vulnerable zones in transitional and coastal Portuguese systems. Application of the United States National Estuarine Eutrophication Assessment to the Minho, Lima,

- Douro, Ria de Aveiro, Mondego, Tagus, Sado, Mira, Ria Formosa and Guadiana Systems. INAG e IPIMAR. ISBN:972-9412-66-9. 95-107pp.
- Ferreira, R. M. C. (2007). Caracterização Geoambiental do sítio da Carrasqueira (Estuário do Sado). Dissertação de Mestrado, FCUL.
- Freitas, M. C., Andrade, C., Cruces, A., Munhá, J., Sousa, M. J., Moreira, S., Jouanneau, J. M. e Martins, L. (2008). Anthropogenic influence in the Sado estuary (Portugal): A geochemical approach. *Journal of Iberian Geology*. 34 (2): 271-286.
- Galtsoff, P. S. (1964). The American Oyster *Crassostrea virginica* (Gmelin), U.S. Fish and Wildlife Service Fisheries Bulletin, 64: 1-480.
- Garaulet, L. L. (2011). Estabelecimento do bivalve exótico *Ruditapes philippinarum* (Adams & Reeve, 1850) no estuário do Tejo: caracterização da população actual e análise comparativa com a congénere nativa *Ruditapes decussatus* (Linnaeus, 1758) e macrofauna bentónica acompanhante. Dissertação de Mestrado, FCUL.
- Gonçalves, A. M. M., Pardal, M. A., Marques, S. C., Troch, M. D. e Azeiteiro, U. M. (2010). Distribution and composition of small-size zooplankton fraction in a temperate shallow estuary (western Portugal). *Fresenius Environmental Bulletin*, 19: 12b, 3160-3176.
- Holm-Hansen, O., Lorenzen, C. J., Holmes, R. W. e Strickland, J. D. (1965). Fluorometric determination of chlorophyll, *Journal du Conseil*, 30(1): 3-15.
- IPMA, Despacho nº 4022/2015. DR 2ª série, nº 78 de 22 de abril.
- IPMA, Despacho nº 9179/2015. DR 2ª série, nº 158 de 14 de agosto.
- Krebs, C. J. (2014) *Ecological Methodology*, Addison-Wesley Educational Publishers, Inc., 3rd ed., Chap. 14: 597-653pp.
- Le Dantec, J. (1968). Ecologie et reproduction de l'huitre portugaise (*Crassostrea angulata* Lamarck) dans le bassin d'Arcachon et sur la rive gauche de la Gironde. *Revue des Travaux de l'Institut des Pêches Maritimes*, 32(3): 237-362.
- Manley, J., Power, A. e Walker, R. (2008). Wild Eastern Oyster, *Crassostrea virginica*, spat collection for commercial grow-out in Georgia. Occasional papers of University of Georgia Marine Extension Service. Shellfish Research Laboratory. Vol. 2.
- Marques, S. C., Azeiteiro, U. M., Marques, J. C., Neto, J. M. e Pardal, M. A. (2006). Zooplankton and ichthyoplankton communities in a temperate estuary: spacial and temporal patterns. *Journal of Plankton Research* 28: 3, 297-312.
- Marques, F. C. (2013). A espécie exótica *Blackfordia virginica* no estuário do Mira: dinâmica populacional e ecologia alimentar. Dissertação de Mestrado, FCUL. 64p.
- McCullagh P. e Nelder J.A. (1989) *Generalized Linear Models*, second. Chapman and Hall, London.

- Monteiro, M. T. (1996). Resposta do zooplâncton à utilização de diferentes tipos de fertilização em tanques de cultura de *Solea senegalensis* Kaup. Relat. Cient. Téc. Inst. Port. Invest. Marít., 24, 16p.
- Monteiro, R. M. C. (2015). A enguia-europeia no Rio Mondego: estrutura populacional, taxa de prateação e fuga de reprodutores. Dissertação de Mestrado, FCUL. 63p.
- Muha, T. P., Chícharo, L., Morais, P., Pereira, R., Ben-Hamadou, R., Cruz, J. e Chícharo, M. A. T. (2012). The effect of distinct hydrologic conditions on the zooplankton community in a estuary under Mediterranean climate influence. *Ecohydrology & Hydrobiology*, 12: 4, 327-335.
- Oliveira, M. R. e Coutinho, M. T. P. (1992). Estado trófico e dinâmica do fitoplâncton das zonas superior, média e inferior do Estuário do Sado. Relat. Téc. Cient. INIP, 59, 34 p.
- Oliveira, M. C. R. M. de (2012). Moluscos Bivalves em Portugal: Composição Química e Metais Contaminantes. Dissertação de mestrado. FCT-Universidade Nova de Lisboa, 65p.
- Pascual, E. (1971). Morfología de la charnel larvaria de *Crassostrea angulata* (Lmk.) en diferentes fases de su desarrollo, *Investigacion Pesquera*, 35(2):549-563.
- Pessoa, M. F., Rosa, A. e Oliveira, J. S. (2000). “*Crassostrea angulata*. Lam na Monitorização de Compostos Organoestanos a partir de Índices de Espessamento da Concha-Resultados Preliminares”, in “*Os Estuários de Portugal e os Planos de Bacia Hidrográfica*”, Eds Gaspar Soares de Carvalho, Fernando Veloso Gomes e Francisco Taveira Pinto, Lisboa. Associação EUROCOAST-PORTUGAL, pp 45-52.
- Pouvreau, S., Petton, S., Queau, I., Bellec, G., Talarmin, E., Le Souchu, P., Alunno-Bruscia, M., Auby, I., Maurer, D., D'Amico, F., Passoni, S., Barbier, C., Tournaire, M., Rigouin, L., Rumebe, M., Fleury, E., Langlade, A., Bouget, J., Collin, K., Fortune, M., Palvadeau, H., Bedier, E., Robert, S., Pepin, J., Grizon, J., Seugnet, J., Chabirand, J., Le Moine, O., Guesdon, S., Lagarde, F., Mortreux, S., Le Gall, P., Messiaen, G., Roque D'Orbcastel, E., Quemener, L., Repecaud, M., Bucas, K., Barbot, S., Guillemot, A., Nonnotte, L., Duros, W., Bonnat, A., Tarot, S., Mille, G. D., Geay, A. e Bouquet, A. (2015). Observer, Analyser et Gérer la variabilité de la reproduction et du recrutement de l'huître creuse en France: Le Réseau Velyger. Rapport annuel 2014.
- Presado, P. V. (2012). Distribuição, abundância e estrutura dimensional das espécies exóticas *Blackfordia virginica* (Mayer, 1910) e *Corbicula flumínea* (Müller, 1774) no estuário do Mira. Dissertação de mestrado, Universidade de Évora e Instituto Superior de Agronomia. 91p
- Qiu, T., Liu, Y., Zheng, J., Zhang, T. e Qi, J. (2015). A feeding model of oyster larvae (*Crassostrea angulata*). *Physiology and Behavior*. Elsevier. 147: 169-174.
- R Core Team (2016). R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing. Viena, Austria. <https://www.R-project.org/>
- Ramajal, J. P. P. M. (2012). Área de distribuição actual, análise da estrutura populacional e exploração comercial do bivalve *Venerupis senegalensis* (Gmelin, 1791) no estuário do rio Tejo. Dissertação de Mestrado, FCUL.

- Ré, P. M. A. B. (1999). Ictioplâncton estuarino da Península Ibérica guia de identificação dos ovos e estados larvares planctónicos. Laboratório Marítimo da Guia, Departamento de Zoologia e Antropologia, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, 114p.
- Rico-Villa, B., Pouvreau, S. e Robert, R. (2009). Influence of food density and temperature on ingestion, growth and settlement of Pacific oyster larvae, *Crassostrea gigas*. *Aquaculture*, 287(3): 395-401.
- Ruano, F. (1997). Fisheries and farming of important bivalves in Portugal. In: U.S. Dep. Commer., NOAA Tech. Rep. NMFS 129:191-20.
- Ruano, F. (2008). Uma Perspectiva Sanitária do Sector da Moluscicultura em Portugal *in* Silva, H. A. e Batista, I. (eds.) (2008). Produção, Salubridade e Comercialização de Moluscos Bivalves em Portugal. Publicações Avulsas do IPIMAR. Lisboa, 20: 171pp.
- Ruano, F. e Dias, M. D. (1994). Contribuição para o apoio à moluscicultura no Estuário do Sado e Lagoa de Albufeira - Seminário sobre Recursos Haliêuticos, Ambiente, Aquacultura e Qualidade do Pescado da península de Setúbal, Setúbal, (26 - 27 Abril 1994), Publicações avulsas do IPIMAR, 1:195-205. (livro ISSN: 0872 – 914X).
- Santos, C.. 1991. Repartição espaço-temporal do zooplâncton no Estuário do Sado. Provas de acesso à categoria de Investigador Auxiliar. IPIMAR
- Santos, F. D. e Miranda, P. (editores), (2006). *Alterações climáticas em Portugal. Cenários, impactos e medidas de adaptação. Projecto SIAM II* - 1ª edição. Gradiva Publicações, L.da, 506 pág., ISBN 989-616-081-3
- Shumway, S. E.. 1996. Chapter 13: Natural Environmental Factors. pp.: 467-511. In: Kennedy, V. S., Newell, R. I. E., Eble, A. F. (eds.). *The Eastern Oyster: Crassostrea virginica*. College Park, Maryland: Maryland Sea Grant College.
- Silva, H. A., Costa, P. e Rodrigues, S. (2008). Morfologia, Biologia e Ecologia dos Moluscos Bivalves *in* Silva, H. A. e Batista, I. (eds.) (2008). Produção, Salubridade e Comercialização de Moluscos Bivalves em Portugal. Publicações Avulsas do IPIMAR. Lisboa, 20: 171pp.
- Thiyagarajan, V. e Ko, G. W. K. (2012). Larval growth response of the Portuguese oyster (*Crassostrea angulata*) to multiple climate change stressors. *Aquaculture*. Elsevier 370-371: 90-95.
- Trindade, A. (1996). A lontra *Lutra lutra* na Reserva Natural do Estuário do Sado. Estudos de Biologia e Conservação da Natureza, nº 8. Lisboa: Instituto da Conservação da Natureza.
- Vale, C., Cortesão, C., Castro, O. e Ferreira, A. M. (1993). Suspended sediment response to pulses in river flow and semidiurnal fortnightly tidal variations in a mesotidal estuary. *Marine Chemistry*, 43: 21-23.
- Venables, W.N. e Ripley, B.D. (2002) *Modern Applied Statistics with S*. Fourth Edition.
- Vilela, H. (1975). A respeito de ostras - Biologia – Exploração - Salubridade. Notas e Estudos da Secretaria de Estado das Pescas. Série – Recursos e Ambiente Aquáticos, N.º1. Serviço de Publicações e Comunicações do Gabinete de Coordenação da SEP, Lisboa.

- Wallace, R. K. e Ramsey, J. S. (1983). Reability in measuring diet overlap. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 40: 347-351.
- Wallace, R. K., Waters, P. e Rikard, F. S. (2008). Oyster Hatchery Techniques. Southern Regional Aquaculture Center, United States Department of Agriculture, No. 4302.
- Wasson, K., Zabin, C.J., Bedinger, L., Diaz, M.C. e Pearse, J.S. (2001). Biological invasions of estuaries without international shipping: the importance of intraregional transport. Biological Conservation 102: 143–153.
- Wollast, R., Michel, D., Debouge, N. e Lefevre. J. (1978). Rio Sado. Campagne de mesures -Décembre 1978. Rapport technique (Lisboa). Serviço de Estudos do Ambiente.
- Yentsch, C. S. e Menzel D. W. (1963). A method for the determination of phytoplankton chlorophyll and phaeophytin by fluorescence. Deep Sea Research and Oceanographic Abstracts, 10(3): 221-231.

Sites consultados:

- <http://www.icnf.pt/portal/ap/r-nat/rnes/fauna> (14/09/2016 pelas 17:28)
- <http://www.mun-setubal.pt/pt/pagina/abastecimentosaneamento/54> (14/09/2016 pelas 17:35)
- <http://observador.pt/2016/03/05/as-ostras-chegaram-caravela-agora-regressaram-ao-sado-aviao/> (15/09/2016 pelas 15:07)
- <http://www.seanoe.org/data/00308/41888/> (15/09/2016 pelas 18:16)